2021年2月19日
EMA / 707383/2020 Corr.1 * [1]
ヒト用医薬品委員会（CHMP）

アセスメントレポート

Comirnaty

一般名：COVID-19 mRNAワクチン（ヌクレオシド修飾）

手順番号EMEA / H / C / 005735/0000

注意

商業的に機密性のあるすべての情報が削除された、CHMPによって採用された評価レポート。

[1] * *ERAステートメントを明確にするための2021年2月19日付けの修正*

公式住所 Domenico Scarlattilaan 6 ●● 1083HSアムステルダム ●● オランダ
訪問と配達の住所 www.ema.europa.eu/how-to-find-usを参照してください
質問を送ってください www.ema.europa.eu/contactにアクセスします　**電話** + 31 （0）88 781 6000　欧州連合の機関

目次

略語のリスト

AE	有害事象
AESI	特別な関心のある有害事象の盲検化されたデー
BDR	タレビュー
BLQ	定量的ボディマス指数のレベルを下回る
BMI	
CD	円二色性
CDC	疾病管理予防センター（米国）キャピラリーゲル電気泳動
CGE	
COVID-19（新型コロナウイルス感染症）（※文字数制限が許す場合、初出時にかっこ書きを追加	コロナウイルス病気2019年
CPP	重要なプロセスパラメータ
CQA	重要な品質属性
CRF	症例報告書
CRM	臨床参考資料
CRO	委託研究機関
CSR	臨床試験報告書
履歴書	履歴書
C＆E	原因と結果のマトリックスデータ収集
DCT	ツール
DLS	動的光散乱
DMC	データ監視委員会
DOE	実験計画法
DSPC	1,2-ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン
電子日記	電子日記
EU	欧州連合
FIH	人間初
FSFV	最初の被験者の最初の訪問Goo
GCP	dClinical Practice
GMC	幾何平均濃度
GMFR	幾何平均フォールドライズ幾何平均
GMR	比
GMT	幾何平均力価
HBc Ab	B型肝炎コア抗体

HBsAg	B型肝炎表面抗原B型肝炎ウイルス
HBV	
HCS	ヒト回復期血清
HCV	C型肝炎ウイルス
HCV	Ab肝炎ウイルス抗体ヒト免疫不全ウイルス
HIV	
HPLC-CAD	高速液体クロマトグラフィー-荷電エアロゾル検出器中間分析
IA	
ICD	インフォームドコンセント文書
ICH	調和国際会議集中治療室
ICU	
IEC	独立した倫理委員会
IgG	免疫グロブリンG
IgM	免疫グロブリンM
IMP	治験薬
IND	治験薬
IPT-C	インプロセステスト制御
IPT-M	インプロセステストモニタリング
IRB	機関審査委員会
IRC	内部審査委員会
内部利益率	疾病率比
IRT	インタラクティブレスポンステクノロジー
IVT	invitro転写
IWR	インタラクティブなWeb応答
LAL	リムルスアメーバ細胞溶解物
LC-UV / MS	液体クロマトグラフィー–紫外線/質量分析による定量下限
LLOQ	
LNP	脂質ナノ粒子
MCB	マスターセルバンク
MedDRA	規制活動のための医学辞典中東呼吸器症候群
MERS	
mRNA	メッセンジャーリボ核酸
modRNA	ヌクレオシド修飾メッセンジャーリボ核酸

NAAT	核酸増幅検査SARS-CoV-2核タンパク質結合
N結合	
NMT	を超えない
NOR	通常の動作範囲
NT50	中和力価50
NT90	中和力価90
NVA	非ワクチン抗原
P2 S	SARS-CoV-2全長、P2変異体、融合前スパイク糖タンパク質実証済みの許容範囲
パー	
（q）PCR	（定量的）ポリメラーゼ連鎖反応プロトコルの偏差
PD	
Ph.Eur。	ヨーロッパ薬局方
PPQ	プロセス性能認定
PRM	一次参考資料
Prevax	ワクチン接種前
PT	優先用語
QA	品質保証
QA	品質属性
QTL	品質公差限界
RBD	受容体結合ドメイン
RCDC	逆累積分布曲線リモートデータキャプチャ
RDC	
RNA	リボ核酸
RP-HPLC	逆相高速液体クロマトグラフィーリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応
RT-PCR	
SAE	重篤な有害事象
SAP	統計分析計画
SARS	重症急性呼吸器症候群
SARS-CoV-2	ワクチン投与に関連する重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2肩の損
SIRVA	傷標準化されたMedDRAクエリ
SMQ	
SOC	器官別大分類
Tdap	ジフテリアワクチントキソイド; 百日咳ワクチン無細胞3成分; 破傷風ワクチントキソイド

TME	対象となる医療イベント
TSE	伝達性海綿状脳症
UFDF	限外ろ過/ダイアフィルトレーション
我ら	アメリカ
Vax	予防接種
VE	ワクチンの有効性
WBC	白血球数ワーキングセルバンク
WCB	
WHO	世界保健機構
WRM	ワーキングリファレンス資料
YOA	年齢

1.手順の背景情報

1.1。書類の提出

申請者のBioNTechManufacturing GmbHは、2020年11月30日に、欧州医薬品庁（EMA）に、規制付属書（EC）No 726の第3条（1）およびポイント1に該当する一元化された手順を通じて販売承認申請を提出しました。 / 2004。一元化された手順への適格性は、7月23日にEMA / CHMPによって合意されました

2020年。

申請者は以下の適応症を申請しました：

「16歳以上の個人におけるSARS-CoV-2ウイルスによって引き起こされるCOVID-19疾患を予防するための能動免疫。Comirnatyワクチンの使用は、公式のガイダンスに従う必要があります。」

このアプリケーションの法的根拠は次のとおりです。

指令2001/83 / ECの第8.3条-完全で独立した申請。

提出された申請書は、管理情報、完全な品質データ、申請者自身の試験および研究に基づく非臨床および臨床データ、および/または特定の試験または研究を代替/サポートする書誌文献で構成されています。

小児科の要件に関する情報

規則（EC）No 1901/2006の第7条に従い、申請書には小児科調査計画（PIP）の合意に関するEMA決定P / 0480/2020が含まれていました。

申請書の提出時点では、いくつかの措置が延期されたため、PIP P / 0480/2020はまだ完了していませんでした。

類似性

規則（EC）No。141/2000の第8条および委員会規則（EC）No 847/2000の第3条に従い、申請者は、許可された孤立した医薬品との類似性の可能性に対処する重要なレポートを提出しませんでした。提案された適応症に関連する状態の孤立した医薬品。

条件付き販売承認

申請者は、生命を脅かす疾患の予防を目的としているため、上記規則第14条aに基づく条件付き販売承認の申請の検討を要請した。さらに、上記の医薬品は、世界保健機関および連合によって正式に認められた公衆衛生上の脅威に対応する緊急事態での使用を目的としています。

新しい有効成分のステータス

申請者は、ウイルススパイクをコードする、対応するDNAテンプレートからの無細胞invitro転写を使用して生成された活性物質一本鎖5 'キャップメッセンジャーRNAを要求しました

（S）上記の医薬品に含まれるSARS-CoV-2のタンパク質は、欧州連合内で以前に認可された医薬品の成分ではないと申請者が主張しているため、新しい有効成分と見なされます。

科学的アドバイス

申請者はCHMPに科学的助言を求めませんでした。

COVID-19 EMAパンデミックタスクフォース（COVID-ETF）

EMAの新たな健康脅威計画に基づく彼らの任務に沿って、ETFはこの販売承認申請の文脈で以下の活動を行いました。

ETFは、申請者から提供された情報に基づいてローリングレビュー手続きの適格性を確認し、ローリングレビュー手続きの開始に同意しました。

さらに、ETFは、（共同）報告者の評価レポートの概要について話し合い、書面による採用ローリングレビュー手順の準備としてCHMPに推奨事項を提供しました。その後、対応する暫定意見がCHMPによって採択されました。

ETFで行われる正確な手順については、セクション1.2を参照してください。

1.2。製品の評価のために取られたステップ[2]

CHMPによって任命された報告者および共同報告者は次のとおりでした：報告者：フィリップ・ジ

ヨセフソン　　共同報告者：Jean-Michel Race

CHMPは、ETFによる確認に関する一元化された手順への適格性を確認しました。ETFによる合意に	2020年7月23日
関するローリングレビュー手順への適格性については、	2020年7月24日
	2020年9月25日
申請者は、販売承認申請をサポートするために、非臨床データに関するローリングレビューの一部として文書を提出しました	2020年10月5日
手順（ローリングレビュー1）は	2020年10月6日
報告者の最初の評価報告書は、すべてのCHMP、ピアレビューア、ETFに回覧されました。	2020年10月22日
報告者は、更新された共同評価レポートをすべてのCHMP、ピアレビューア、ETFに回覧しました。	2020年10月28日
ETFの議論は	2020年10月29日
24時間の書面による手順によるRRに関する最初の暫定意見の採択	2020年11月6日
申請者は、販売承認申請をサポートするために、品質データのローリングレビューの一部として文書を提出しました	2020年11月6日

[2] これらの手順は、アクティブな評価フェーズ中に申請者が行った追加の提出を反映していません。

手順（ローリングレビュー2）は	2020年11月7日
報告者の最初の評価報告書は、すべてのCHMP、BWP、ピアレビューア、ETFに回覧されました。	2020年11月19日
BWP臨時日干し会議が開催されました	2020年11月24日
報告者によって起草され、CHMPとETFに回覧された共同ドラフトの概要とLoQを更新しました 。	2020年11月25日
ETFの議論は	2020年11月26日
このローリングレビューに対する第2回中間意見の採択	2020年11月30日
販売承認の申請は、EMAによって正式に受領されました。	2020年11月30日
手順はに始まりました	2020年12月1日
BWP臨時日干し会議が開催されました	2020年12月15日
報告者の最初の評価報告書は、すべてのCHMP、BWP、査読者、ETFに回覧されました。	2020年12月16日
共同報告者の最初の評価報告書は、	2020年12月16日
申請者による口頭説明付きのBWP臨時日干し会議が開催されました	2020年12月16日
ETFの議論は	2020年12月17日
報告者は、共同評価報告書をすべてのCHMPメンバーに回覧しました。	2020年12月17日
BWP臨時日干し会議が開催されました	2020年12月18日
PRACは、PRAC評価の概要とCHMPへのアドバイスについての臨時会議で合意しました。	2020年12月18日
CHMP臨時日干し会議が開催されました	2020年12月18日
以下のGMPおよびGLP検査は、CHMPによって要求され、製品の品質/安全性/有効性評価の一部としてそれらの結果が考慮されました。	
– 2020年11月20日、米国にあるWyeth BioPharma、Andover（メーカーDS、QC DS、QC DP）およびPfizer Inc.、Chesterfield（QC DP、QC DP）のサイトのGMP検査（遠隔評価）が実施されました。実施された検査の結果は2020年12月15日に発行されました。	2020年12月15日
– 11月3日から6日までのドイツのCROでのGLP検査 2020年。実施された検査の結果は2020年11月6日に発行されました。	2020年11月6日

CHMPは、提出された全体的なデータと委員会内の科学的議論に照らして、Comirnatyに条件付きの販売承認を付与することについて肯定的な意見を発表しました。	2020年12月21日

2.科学的議論

2.1。問題文

2.1.1。病気または状態

COVID-19は、中国で人獣共通感染症ウイルスとして最初に出現し、人獣共通感染症によって世界中に急速に広まったSARS-CoV-2によって引き起こされます。2019年12月、原因不明の肺炎が中国の武漢で発生しました。2020年1月、新しいコロナウイルス（2019-nCoV）が根本的な原因であることが明らかになりました。2020年1月初旬、2019-nCoVの遺伝子配列が世界保健機関（WHO）と一般の人々に利用可能になり、ウイルスはベータコロナウイルスサブファミリーに分類されました。配列分析により、系統樹は、中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルスを含む、ヒトに感染する他のコロナウイルスよりも重症急性呼吸器症候群（SARS）ウイルス分離株との密接な関係を明らかにしました。SARS-CoV-2感染症とその結果生じる病気COVID-19は世界的に広がり、ますます多くの国に影響を及ぼしています。2020年3月11日、WHOはCOVID-19の発生をパンデミックとして特徴づけました。2020年12月1日の時点で、世界で確認されたCOVID-19の症例は6,300万人を超え、死亡者は140万人を超え、191の国/地域が影響を受けています。

このマーケティング申請の提出時点で、確認された症例と死亡率は世界的に上昇し続けています。進行中のパンデミックは、世界中の公衆衛生と経済の安定に対する重大な課題であり続けています。

2.1.2。疫学と危険因子

SARS-CoV-2に対する既存の免疫がないため、すべての個人が感染のリスクにさらされています。感染後、すべてではないが一部の個体は、中和抗体応答および細胞性免疫に関して防御免疫を発達させる。ただし、現在、この保護がどの程度、どのくらい続くかは不明です。

WHOによると、感染者の80％は病院でのケアを必要とせずに回復し、15％はより重篤な疾患を発症し、5％は集中治療を必要とします。

加齢と基礎疾患は、重度の疾患を発症する危険因子と見なされます。

2.1.3。病因と病因

SARS-CoV-2は、4つの構造タンパク質を持つRNAウイルスです。それらの1つであるスパイクタンパク質は、宿主細胞に存在するアンジオテンシン変換酵素2（ACE-2）に結合する表面タンパク質です。したがって、スパイクタンパク質はワクチン開発に関連する抗原と見なされます。スパイクタンパク質に対する抗体がウイルスを中和し、感染を防ぐことが示されています。

2.1.4。臨床症状と診断

COVID-19の症状は一般的に咳と発熱を伴い、胸部X線写真ではすりガラス状の混濁または斑状の影が見られます。しかし、多くの患者は発熱やレントゲン写真の変化なしに現れ、感染症は無症候性である可能性があり、これは感染の制御に関連しています。症候性の被験者の場合、疾患の進行は、換気を必要とする急性呼吸窮迫症候群、それに続く多臓器不全および死亡につながる可能性があります。

入院患者の一般的な症状（頻度の高いものから低いものの順に）には、発熱、乾いた咳、息切れ、倦怠感、筋肉痛、吐き気/嘔吐または下痢、頭痛、脱力感、鼻漏などがあります。COVID-19を患っている人の約3%で、無嗅覚症（臭いの喪失）または味覚消失（味覚の喪失）が唯一の症状である可能性があります。

米国疾病予防管理センター（CDC）は、COVID-19の症状を次の1つ以上を含むと定義しました。

- 熱
- 新規または増加した咳
- 新規または増加した息切れ悪寒
-
- 新たなまたは増加した筋肉痛味覚または嗅覚
- の新たな喪失喉の痛み
-
- 下痢
- 嘔吐
- 倦怠感
- 頭痛
- 鼻づまりまたは鼻水吐き気
-

すべての年齢がこの病気を呈している可能性がありますが、特に致死率（CFR）が高い人がいます
> 60歳。たとえば、イタリアでは、CFRは40歳未満の成人で0.3%でしたが、70〜79歳の成人で12.8%、80歳以上の患者で20.2%でした。併存疾患は、心血管疾患、糖尿病、高血圧、慢性呼吸器疾患などのCFRの増加にも関連しています。医療従事者は、感染した患者への職業的曝露のために、COVID-19患者の間で過大評価されています。

ほとんどの場合、SARS-CoV-2を検出し、感染を確認するために分子検査が使用されます。SARS-CoV-2ウイルスRNAを標的とする逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）試験法は、COVID-19の疑いのある症例を診断するためのゴールドスタンダードのinvitro法です。テストされるサンプルは、綿棒で鼻および/または喉から収集されます。活動性感染を確認するために使用される分子的方法は、通常、曝露から数日以内、および症状が始まる可能性のある時間の前後に実行されます。

2.1.5。管理

COVID-19の管理は2020年に開発され、現在、抗ウイルス療法（レムデシビルなど）、回復性血漿および過免疫免疫グロブリンから投与される抗体、デキサメタゾンやスタチンなどの抗炎症剤、標的免疫調節剤および抗凝固剤が含まれています。これらの治療法は、病気の重症度と期間にさまざまな限定的な影響を示しており、病気の段階と病気の症状に応じて効果が異なります。

COVID-19に感染した個人のケアは臨床経験によって改善されましたが、進行中のパンデミックの間、特に脆弱なグループの保護とパンデミックの影響の緩和の両方のために、予防ワクチンの緊急かつ満たされていない医療ニーズが残っています。人口レベル、例えば、機能する医療制度を維持し、ウイルスの蔓延を減らすために必要な厳格な措置の社会的および経済的影響を回避するため。現在、EUにはCOVID-19の予防のために承認されたワクチンはありません。

商品について

BNT162bは、COVID-19を予防するためのmRNAワクチンです。ワクチンは、脂質ナノ粒子（LNP）にカプセル化された完全長SARS-CoV-2スパイク糖タンパク質（S）をコードするmRNAでできています。Sタンパク質の配列は、プログラム開始時に入手可能であった「SARS-CoV-2分離株武漢-Hu1」の配列に基づいて選択されました：GenBank：MN908947.3（完全なゲノム）およびGenBank：QHD43416.1（スパイク表面糖タンパク質）。

活性物質は、SARS-CoV-2のスパイク抗原をコードするコドン最適化配列に翻訳される一本鎖の5 'キャップmRNAで構成されています。RNAには、高いRNA安定性と翻訳効率を仲介するために最適化された一般的な構造要素が含まれています（セクション2.2を参照）。LNPは、RNA分解酵素による分解からRNAを保護し、筋肉内（IM）送達後の宿主細胞のトランスフェクションを可能にします。

mRNAは宿主細胞の細胞質ゾルでSARS-CoV-2Sタンパク質に翻訳されます。次に、Sタンパク質は細胞表面に発現し、そこで適応免疫応答を誘導します。Sタンパク質は、ウイルスに対する抗体を中和するための標的として特定されているため、関連するワクチン成分と見なされます。

ワクチンBNT162b2（30 µg）は、21日間隔で2回の30 µgの希釈ワクチン溶液で筋肉内（IM）投与されます。

意図された適応症：' *16歳以上の個人におけるSARS-CoV-2ウイルスによって引き起こされるCOVID-19疾患を予防するための能動免疫。*

アプリケーションの種類と開発の側面

申請者は、以下の基準に基づき、上記規則第14条aに基づく条件付き販売承認の申請の検討を要請した。

- ベネフィットとリスクのバランスはプラスです。

申請者によると、16歳以上の個人において、SARS-CoV-2によって引き起こされるCOVID-19疾患を予防するための能動免疫において、Comirnatyにはプラスのベネフィットとリスクのバランスがあります。これは、安全性、忍容性、免疫原性を調査する重要な研究C4591001（BNT162-02とも呼ばれる）、フェーズ1/2/3、プラセボ対照、ランダム化、オブザーバーブラインド、用量設定試験からの証拠に基づいています。健康な個人におけるCOVID-19に対するSARS-COV-2RNAワクチン候補の有効性と有効性。

申請者は、これまでに入手可能なデータは、そのワクチンが95%有効であり、重篤な副作用がなかったことを示しており、ワクチンが軽度および重度のCOVIDを予防したことを示していると述べた。

19。

- 申請者は包括的なデータを提供できる可能性があります。

申請者は、長期的なデータを取得し、標準的な販売承認をサポートするための十分なフォローアップを確保するために、最初に割り当てられた参加者との進行中の重要なフェーズ3研究を可能な限り継続する予定です。COVID-19ワクチンが入手可能である場合、スポンサーは参加者に、理想的にはCOVID-19ワクチンが完全な規制当局の承認を得るまで、可能な限り最初にランダム化された進行中の研究に留まるよう訴えます。すべての場合において、プラセボから能動ワクチン接種へのクロスオーバーを選択した参加者に関係なく、ワクチン接種後24か月で当初計画されたまで参加者を追跡することを目的としています。16歳未満の個人におけるCOMIRNATYの安全性と有効性は、このアプリケーションでは確立されていません。小児科の調査計画に定められているように、小児科の被験者を対象とした4つの研究が計画されています。妊婦を対象とした研究もEUで計画されています。ワクチン接種者のコホートを監視し、AESIのリスクを評価する一次データ収集を使用して、承認後の積極的監視安全性調査（C4591010調査）がEUで実施されます。申請者はまた、実際の環境で潜在的なCOVID-19の症状を示して病院または救急治療室に来院した個人の非介入研究（テストネガティブデザイン）を実施します。これらの研究により、現実の環境や重篤な疾患、特定の人種、民族、年齢層におけるワクチンの有効性を判断することができます。ワクチン接種者のコホートを監視し、AESIのリスクを評価する一次データ収集を使用して、承認後の積極的監視安全性調査（C4591010調査）がEUで実施されます。申請者はまた、実際の環境で潜在的なCOVID-19の症状を示して病院または救急治療室に来院した個人の非介入研究（テストネガティブデザイン）を実施します。これらの研究により、現実の環境や重篤な疾患、特定の人種、民族、年齢層におけるワクチンの有効性を判断することができます。ワクチン接種者のコホートを監視し、AESIのリスクを評価する一次データ収集を使用して、承認後の積極的監視安全性調査（C4591010調査）がEUで実施されます。申請者はまた、実際の環境で潜在的なCOVID-19の症状を示して病院または救急治療室に来院した個人の非介入研究（テストネガティブデザイン）を実施します。これらの研究により、現実の環境や重篤な疾患、特定の人種、民族、年齢層におけるワクチンの有効性を判断することができます。現実の環境で潜在的なCOVID-19の症状を示して病院または救急治療室に来院した個人の非介入研究（テストネガティブデザイン）。これらの研究により、現実の環境や重篤な疾患、特定の人種、民族、年齢層におけるワクチンの有効性を判断することができます。現実の環境で潜在的なCOVID-19の症状を示して病院または救急治療室に来院した個人の非介入研究（テストネガティブデザイン）。これらの研究により、現実の環境や重篤な疾患、特定の人種、民族、年齢層におけるワクチンの有効性を判断することができます。

- 満たされていない医療ニーズに対応します

申請者によると、EUで承認された他のワクチンまたはEUで利用可能な成功したCOVID-19療法がないため、満たされていない医療ニーズが存在し、極めて重要な臨床試験。

- 即時利用可能性の公衆衛生への利益は、事実に内在するリスクを上回ります
  その追加データはまだ必要です。

申請者によると、COVID-19を予防するためのCOMIRNATYの有効性は最終分析で実証されました。65歳以上の高齢者、性別、人種/民族、国、肥満の被験者、および併存疾患によるリスクのある被験者を含む、年齢によって定義された各サブグループで観察されたVEは、ワクチン接種者を疾患。条件付きの販売承認を通じてComirnatyがすぐに利用できることの利点は、欧州連合で利用可能な承認されたワクチンまたは成功したCOVID-19療法がないという事実に基づいています。効果的なワクチンは、この危機的な時期にパンデミックに影響を与える可能性があり、すぐに実施されるCOVID-19ワクチン接種プログラムは、さらなるパンデミックの波を防ぎ、病気による死亡率を大幅に減らす可能性があります。

2.2。品質面

2.2.1。前書き

完成品は、225µg/ 0.45 mL（希釈前）のBNT162b2（全長SARS-CoV-2スパイクタンパク質をコードする5 'キャップmRNA）を活性物質（AS）として含む注射用分散液の濃縮物として提供されます。

他の成分は次のとおりです：ALC-0315（4-ヒドロキシブチル）アザネジイル）ビス（ヘキサン-6,1-ジイル）ビス（2ヘキシルデカノエート）、ALC-0159（2-[（ポリエチレングリコール）-2000] -N、N-ジテトレードシラセタミド）、1,2-

ジステアロイル-sn-グリセロ-3-ホスホコリン（DSPC）、コレステロール、塩化カリウム、リン酸二水素カリウム、塩化ナトリウム、リン酸二ナトリウム二水和物、ショ糖、注射用水。

この製品は、ストッパー（合成ブロモブチルゴム）付きの2 mL透明バイアル（タイプIガラス）と、アルミニウムシール付きのフリップオフプラスチックキャップで入手できます。パックサイズ：195バイアル。

複数回投与（5回投与）バイアルは凍結保存されており、希釈する前に解凍する必要があります。解凍後、ワクチンを希釈してすぐに使用する必要があります。

1.8 mLの塩化ナトリウム（0.9%）溶液（付属していません）で希釈した後、1回の投与（0.3 mL）には30マイクログラムのCOVID-19 mRNAワクチン（脂質ナノ粒子に埋め込まれています）が含まれます。

2.2.2。有効成分

一般情報

活性物質は、SARS-CoV-2のスパイク抗原をコードするコドン最適化配列に翻訳される一本鎖の5 'キャップmRNAで構成されています。ワクチンはSARS-CoV-2のスパイク糖タンパク質（S）に基づいています。シーケンスは、「重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2分離株武漢-Hu-1」のシーケンスに基づいて選択されました。タンパク質配列には2つのプロリン変異が含まれており、抗原的に最適な融合前の確認（P2 S）が保証されます。RNAにはウリジンは含まれていません。RNA合成では、ウリジンの代わりに修飾N1-メチルプソイドウリジンが使用されます。申請者は、BNT162b2の作用機序について説明します。

製造、プロセス制御、および特性評価

メーカー

活性物質は、米国アンドーバーのWyeth BioPharma Division、またはドイツのマインツにあるBioNTech Manufacturing GmbH、およびドイツのラウプハイムにあるRentschler BiopharmaSEによって製造および管理されています。

手順の中で、有効成分の製造およびバッチリリースを目的とした最終製品の試験場所のGMPステータスに関連する多くの問題が浮き彫りになりました。これらの問題は、メジャーオブジェクション（MO）として分類されました。サイトと検査官からさらに情報が得られた後、MOは解決されたと見なされました。

その後、製造およびテストサイトのEUGMP証明書が取得されました。結論として、適切な製造許可とGMP証明書は、すべての有効成分と完成品の製造サイトに適用されます。

製造プロセスとプロセス制御の説明

AndoverとBNTMainz＆Rentschlerの両方の製造サイトの製造プロセスとプロセス制御に関する情報が提供されました。

BNT162b2活性物質の製造プロセスには、5つの主要なステップが含まれます。RNAは、in vitro転写（IVT）ステップを介して線形DNAから合成されます。IVTステップの後には、いくつかの精製およびろ過ステップが続きます。最後に、RNAは最終ろ過を受けてから分注され、凍結保存されます。

フロー図が提供され、各ステップのプロセスステップ、プロセス入力、およびプロセス制御が示されました。製造工程の各ステップの目的は十分に説明されています。ホールドタイムとプロセスパラメータの範囲、およびルーチンのインプロセス制御が、各ステップの対応する受け入れ基準とともに一覧表示されます。すべてのプロセスパラメータがリストされているわけではありませんが、リストにはすべての重要なプロセスパラメータといくつかの重要でないプロセスパラメータが含まれていることに注意してください。 。 主要なプロセスパラメータが書類に記載されていることに同意します。申請者は、これらのパラメーターをクリティカルプロセスパラメーター（CPP）にアップグレードし、これらのCPPの許容範囲を含めることに同意しました。いくつかのプロセスパラメータの許容範囲の変更といくつかのコントロールの追加を含む更新された情報が手順中に提出されました。戦略は許容できると判断され、申請者はいくつかのパラメータの許容範囲に関する情報を提供します。

活性物質は-15°Cから-25°Cの間で保存されます。断熱された荷送人を使用した輸送が適格であり、完成品の製造現場への出荷時間が定義されています。中間体の出荷検証は、推奨事項として合意されています。

バッチ番号付けシステムは十分に説明されています。

材料の管理

有効成分の製造プロセスで使用される原材料とソリューションの適切な概要が提供されます。

代表的な分析証明書が提供されています。提出された情報は、原材料の適切な品質を裏付けています。申請者は、出発物質の適切な微生物学的管理を確実にするために、関連する試験戦略を実施することが推奨されます（ **REC1）** また、FPの製剤バッファーに含まれるHEPES（ファイザー）原料にRNaseの汚染がないことを確認するために、関連するテスト戦略を実装する必要があります（ **REC2）**。 5 'キャップとそれに関連する不純物の合成の説明は、手順中に要求されました。適切な情報が提供されました。申請者は、2021年第1四半期までに、関連するすべての製造サイトで製造プロセスで使用される酵素の放出試験のための社内機能活性分析法を実装する必要があります。

（REC3）。

BNT162b2活性物質は、形質転換されたプラスミドDNAを介して生成された線形DNAテンプレートを使用したinvitro転写によって製造されます。
大腸菌 細胞。

線形DNAテンプレートは最終生成物の一部ではありませんが、mRNA生成物の配列を定義するため、活性物質の適切な制御を確保することが基本です。線状DNAテンプレートの製造プロセスの変更（例えば、プラスミド宿主細胞への変更）は、活性物質の異なる不純物プロファイルをもたらす可能性があります。この出発材料の製造プロセスと管理戦略に関する追加の詳細が提供されており、最初は簡単に説明されていますが、それに応じて書類が更新されます。

プラスミド製造プロセスに関与するセルバンクについて説明します。マスターセルバンク（MCB）およびワーキングセルバンク（WCB）の認定テストがリストされています。関連する仕様が設定され、現在のMCBおよびWCBからのデータが提供されます。プラスミドMCBとWCBはセルバンク安定性プログラムに登録されています。関係書類は必要に応じて更新されることに注意して、戦略は適切であると見なされます。将来のWCBを確立するためのプロトコルが提供されます。

発酵後、細胞を回収し、化学的に溶解してプラスミドDNAを回収します。この溶解ステップの後、環状プラスミドDNAが精製されます。環状プラスミドDNAをろ過し、凍結保存します。初期の貯蔵寿命を確立するための戦略が承認され、提供されたデータが提案された貯蔵寿命をサポートします。の製造に使用される原材料およびその他の材料のリスト

線形DNAテンプレートが提供されます。使用されるすべての材料は動物由来ではなく、承認されたサプライヤーから供給されています。

環状プラスミドDNAおよびDNA線形テンプレートの仕様が提供されています。プラスミドDNAについては、宿主細胞のゲノムDNA、RNA、タンパク質、内毒素、バイオバーデン、プラスミドアイソフォームなどのプロセスおよび製品に関連する不純物が日常的に定量化されています。参考資料について説明します。線形DNAテンプレートの製造における変更の実装は、バリエーションアプリケーションで適用する必要があります。

重要なステップと中間体の制御

プロセスと活性物質の品質を制御するために使用されるプロセスパラメータとテストが提供されます。CPPのリストは、対応する更新された許容範囲とともに提供されました。

重要度の割り当ての根拠を含む品質属性の要約が提供されます。CQAまたはQAに分類する理由は、属性ごとに示され、合理的であるように見えます。

工程内試験方法は、書類で定義および説明されています。

重要な、ならびに重要でない操作パラメータおよび工程内試験に関して、活性物質製造プロセスを監視および制御するために設置されている制御システムに関して、許容可能な情報が提供されている。制限を超えた場合に実行されるアクションが指定されています。

プロセス検証

BNT162b2活性物質の製造プロセスは適切に検証されています。生産の一貫性は、すべてのサイトでの本格的な商用プロセス検証/プロセスパフォーマンス認定バッチで示されています。重要な操作パラメータのすべての受け入れ基準と工程内試験の受け入れ基準が満たされ、精製プロセスが、所定の仕様と工程内受け入れ基準に準拠する再現可能な品質の活性物質を一貫して生成することを示しています。

比較可能性の研究では、プロセス1のバッチと比較して、最初のプロセス2のバッチでRNAの完全性の低下が観察されました。これについては、製造プロセス開発に関する次のセクションで詳しく説明します。CTPおよびATPボリュームのプロセスパラメータを調整した後、RNA完全性レベルはより一貫性があり、ATPおよびCTPボリュームに対して行われたボリューム調整が、プロセス1バッチで達成されるレベルにより類似したRNA完全性レベルで一貫して再現可能な結果を 提供することを確認します。ATPおよびCTPの目標量が増加したため、実証済みの許容範囲（PAR）範囲を調整し、それに応じて書類を更新する必要があります（ **REC8**）。

DNase消化ステップの堅牢性は、有効成分レベルで残留DNA不純物を日常的に制御しているものの、包括的に実証されているとは見なされていません。このステップの堅牢性を強化するための研究が進行中であることが確認されており、これらを報告する必要があります（ **REC7**）。

申請者によると、最終的な間接フィルター認定評価はすでに利用可能であり、評価のために提供する必要があります（ **REC6**）。

関連する保持時間と輸送時間は定義されており、適切な研究によって検証されています。

出荷資格戦略は詳細に説明されており、出荷の熱的側面と機械的側面の両方を考慮しています。冷凍ASをに輸送するための出荷手順と構成

完成品の製造サイトは、定義された期間、製品の温度を許容範囲内に維持するために検証されました。

輸送検証研究が計画されており、結果は2021年第1四半期に利用可能になります。出荷実績認定データを提供するための推奨事項が合意されました（ **REC6** ）。

製造工程の開発

プロセス開発の変更は適切に要約されました。開発の歴史の中で、2つの有効成分プロセスが使用されてきました。プロセス1（臨床試験資料）およびプロセス2（商業プロセス）。プロセスの違い、変更を行う理由、および比較可能性調査の結果に関する詳細が提供されます。有効成分プロセスバージョン間の主な変更点は、書類に記載されています。

非臨床バッチと臨床バッチの比較可能性を示すバッチ分析結果が提供されます。製品関連種の追加の特性評価と最終製品仕様との関係は、特定の義務として提供されます。

RNA種のピークパターンの類似性を示すエレクトロフェログラムが提示されましたが、プロセス1と2の間のいくつかの違いも指摘されました。したがって、プロセスによって同一の種が得られると結論付けることはできません。断片化された種は、予想される安定性と翻訳効率が低いため、発現タンパク質をもたらさない可能性があります（以下を参照）。ただし、切り捨てられたRNAと発現タンパク質に関する実験データの欠如は、決定的な結論を可能にせず、さらなる特性評価が必要です。したがって、追加の特性データは、特定の義務として提供される必要があります（ **SO1** ）。

ASの5 'キャップエンドに関して、逆相高速液体クロマトグラフィー-UVおよび質量分析（LC-UV / MS）の特性評価により、5'キャップとキャップなしの構造は同じであるが、わずかにシフトしていることが確認されました。プロセス2でより高い5 'キャップレベル。報告された品質属性「キャップ付きインタクトRNA」は、完全に無傷の分子であり、5'キャップを持つ活性物質中のRNA分子の割合を反映することを目的としています。キャップされたインタクトなRNAは測定されず、5 'キャップおよび％RNAの完全性テストの結果からのみ計算されることに注意してください。したがって、この議論だけでは、プロセス2とプロセス1の比較可能性を完全に確認することはできず、さらなる特性評価データと仕様の正当化が要求されました。

出願人によると、フラグメントの大部分は、5 '領域を含むが3'領域およびポリ（A）テールを欠く短縮型転写物で構成されると予想される。ただし、キャップとポリ（A）テールの両方を持つ短い/切り捨てられたmRNAのかなりの割合を示す結果は、このステートメントと一致していません。したがって、申請者は、得られた結果について話し合い、正当化し、明らかな不一致について説明するよう求められました。断片化された種の濃縮サンプルを使用した直交法を使用した追加の特性データが提供されました。分離された断片化された種の予備的な特性データは、それらが主に5 'キャップを含むが、ポリ（A）テールを欠いていることを示唆し、ほとんどの断片がIVT反応の早期終了から生じるという仮説を支持します。 **SO1** ）。 申請者は、ポリ（A）テールの潜在的な過大評価を引き続き評価し、将来のASプロセスの変更に備えてフラグメントを特徴付ける必要があります（ **SO1** ）。

さらに、3 '末端のポリ（A）テールはLC-UV / MSによって特徴づけられました。結果はプロセス1とプロセス2のバッチ間で同等であることが実証されましたが、有意差が確認されました。予想通り、ポリ（A）テールの不均一性はプロセス1とプロセス2の両方のバッチで観察されました。したがって、プロセス1を比較すると、ポリ（A）テールパターンにわずかな違いが観察されました。

およびプロセス2ASバッチ。出願人は、再分配はおそらくプロセス1でPCR由来のDNAテンプレートの代わりにプロセス2で線形化されたDNAプラスミドテンプレートを使用したためであると説明します。両方のプロセスで、ポリ（A）テールは十分に長いと予想されます。 RNAの安定性と翻訳機能を保証します。この説明は、CHMPによって合理的であると見なされます。

BNT162b2活性物質の一次配列全体は、LC / MS / MS-オリゴヌクレオチドマッピングによって同等であることが実証されました。円二色性（CD）分光法により、プロセス1とプロセス2のASバッチの高次構造が同等であることが確認されました。

機能性を実証するために、BNT162b2活性物質のinvitro発現後のタンパク質サイズを決定しました。発現されたタンパク質のサイズは、プロセス1とプロセス2のバッチ間で同等であることが実証されました。ただし、さらに明確にする必要があり、インタクトなS1S2タンパク質の計算された分子量との相関関係を示す必要があります。（（ **SO1**）。

プロセス2の製造施設全体の比較可能性を評価するために、2番目の比較可能性調査が提示され、AndoverサイトとBioNTechサイトからのバッチがそれぞれ調査に含まれました。さらに、米国市場での臨床供給および緊急供給のために計画されたプロセス2バッチと、プロセス1の代表的なバッチが比較に含まれました。

結論として、AndoverおよびBioNTechサイトで製造されたプロセス2バッチは、アガロースゲルおよびLC-UVとその後のMS分析によって特徴付けられた5 'キャップ構造によって監視された同一性に関して同等であることが実証されました。さらに、一次配列と二次構造は、研究に含まれるすべてのプロセス1とプロセス2のバッチで同等であることが実証されました。ポリ（A）テールの長さと分布はRP-HPLCとMS分析によって調査されました。プロセス2のバッチはすべて同等であることがわかりましたが、プロセス1のバッチは多少異なるポリ（A）テールパターンを示しました。

BNT162b2活性物質のinvitro発現後の発現タンパク質サイズが決定され、結果はバッチ間の比較可能性を示しています。ただし、WBによって識別されたバンドの識別は十分に正当化されておらず、さらなる説明が要求されます（ **SO1**）。

全体として、提出されたデータは、AndoverおよびBioNTechサイトで製造されたプロセス2バッチの一貫した同等の品質を確認しています。

個々の単位操作のスケールダウンモデルを使用したプロセス特性評価研究が実施されました。

CPPまたは非CPPの分類に関係なく、プロセスパラメータのいずれかに対する将来の変更は、MAの条件のバリエーションとして適用する必要があることに注意してください。

当初、ATPとCTPの追加量は、両方とも理論的に過剰に供給されたため、非CPPとして識別されました。追加の製造キャンペーンと追加の小規模研究に続いて、これらの量が制限される可能性があることが示され、範囲は上限で拡大されました。これらの量を調整した後、RNAの完全性のパーセンテージがプロセス1のバッチとより一致するレベルに増加したことに注意してください。それにもかかわらず、ATPとCTPのターゲットボリュームは、RNAの完全性のパーセンテージを上げるためにこれらのヌクレオチドが律速になるのを避けるために増やされているので、PAR範囲を調整し、それに応じて書類を更新する必要があります。

（REC8）。

CPPの許容範囲は、書類で更新されます。

患者の安全性に関連して、活性物質プロセスに含まれる潜在的なプロセス関連不純物の安全性リスク評価が実施されました。不純物の発生源は十分に対処されています。

安全リスク評価戦略には、除去がないと仮定した場合の不純物の理論上の最悪の場合の濃度を、計算された安全上の懸念のしきい値と比較することが含まれます。

BNT162b2活性物質製造プロセスからの残留原材料および試薬の最悪の場合のレベルは、事前に決定された安全限界を大幅に下回ると計算されました。これは許容範囲です。

特性評価

分析的特性評価は、商業規模で製造されたBNT162b2活性物質で実行されました。これは許容範囲です。

物理化学的特性評価には、一次構造、5 'キャップ構造、ポリ（A）テール、および高次構造の評価が含まれていました。一次構造は、オリゴヌクレオチドマッピングと直交法、次世代シーケンシング（NGS）テクノロジーを使用したRNAシーケンシングによって確認されました。結果はRNA配列を確認します。5 'キャップと3'ポリAテールは、2つの別々のLC-UV / MSメソッドによって確認されました。5 '末端の主な形態は、5'-キャップを有する完全長ヌクレオチド配列であることが実証された。BNT162b2 mRNA活性物質の高次構造は、生物物理学的手法を使用して溶液中で特徴付けられました。

全体として、最先端の方法が物理化学的特性評価に適用され、その結果により、期待されるシーケンスと品質の属性が確認されました。申請者は、活性物質中の正しい形態の存在下で、より少量の製品関連不純物を検出するための特定の分析方法の能力を包括的に説明することをお勧めします。（（ **REC9**）。

特性評価セクションの不確実性は、生物学的特性評価が提示されていないことです。手順中の質問に応えて、申請者は、効力決定のための戦略で書類を更新し、invitro発現（効力）結果および活性物質ロット20Y513C101の発現タンパク質サイズの分析からの結果を含む関連する機能アッセイに取り組むことを約束しました。申請者は、活性物質のタンパク質発現の生物学的特性評価に使用される特定の方法の結果とアッセイの適合性について話し合うことをお勧めします（ **REC10**）。

上記のように、発現されたタンパク質サイズの結果は現在十分に確認されておらず、適切な特性評価を必要とするMAの観点から特定の義務が定められています（ **SO1**）。

プロセス関連および製品関連の不純物、および潜在的な汚染物質について説明します。いくつかのバッチが不純物について評価されました。つまり、両方の製造サイトからの臨床、初期緊急供給、およびPPQバッチです。

対象となる唯一の製品関連不純物は、invitro転写反応に由来する二本鎖RNAです。活性物質バッチの結果は、二本鎖RNAのレベルが低く、許容可能で一貫していることを示しています。

二本鎖RNAに加えて、断片化された種とも呼ばれる短縮型RNAがあります。トランケートされたRNAは、RNAの完全性の観点からAS仕様に反映されています。ただし、BNT162b2 ASの特性評価は、現在、特定のパラメーターに関して完全ではありません。これは、現在のASおよび完成品の受け入れ基準が断片化された種の割合を考慮していることを考えると特に重要です。申請者は、最終製品に存在する短縮型および修飾型のmRNA種をさらに特徴づけるために、追加のデータを提供する必要があります。優勢な種に関連するタンパク質/ペプチドの特性データを提供する必要があります

（SO1）。

残留DNAテンプレートは、invitro転写反応に追加された線形化されたDNAテンプレートに由来するプロセス関連の不純物です。残留DNAテンプレートは、有効成分の仕様で定義されているように測定されます。レベルは、適切に低いと見なされる仕様制限によって制御されます。

このセクションで説明する潜在的な汚染物質は、エンドトキシンとバイオバーデンです。調査したすべてのバッチについて、Proteinase Kプール、UF保持液の回収前、UF製品プール、および活性物質について許容できる結果が示されています。

仕様

有効成分の仕様には、外観（透明度、着色（Ph。Eur。））、pH（Ph。Eur。）、含有量（RNA濃度）（UV分光法）、コード化RNA配列の同一性（RT-PCR）、RNAのテストが含まれています。完全性（キャピラリーゲル電気泳動）、5'-キャップ（RP-HPLC）、ポリ（A）テール（ddPCR）、残留DNAテンプレート（qPCR）、dsRNA（免疫ブロット）、細菌エンドトキシン（Ph。Eur。）およびバイオバーデン（Ph 。 ユーロ。）。

有効成分の提案された仕様は、定期的な放出試験のために選択された属性に関して承認のために受け入れられると考えられています。手順中に、質問に応じて、いくつかの属性の仕様制限が厳しくなりました。

BNT162b2活性物質のポリ（A）テールの長さは、RNAの安定性と翻訳効率にとって重要であり、これまでに同等の結果が報告されていますが、ポリ（A）テールの長さは活性物質放出試験に含める必要があります（ **SO2）**。

合格基準を確立するために使用される理論的根拠は、意図された商業規模およびプロセスで製造されたBNT162b2活性物質を代表する限られたデータセットに基づいて詳細に説明されています。利用可能なデータから、mRNAの完全性、dsRNA、およびPoly（A）テールの受け入れ基準は、臨床研究で使用されるバッチおよび実証された製造能力に関連して考慮され、さらなるデータが利用可能になったときに必要に応じて再評価および改訂する必要があります

（SO2）。

効力試験は、有効成分の管理には含まれていませんが、代わりに最終製品の放出試験のレベルで実施されます。この製品の性質を考慮して、このアプローチはCHMPによって承認されています。

分析手順

有効成分の試験に使用されるすべての分析方法は、書類に十分に記載されています。以下のテストは、PhEurの章に従って実行されます。透明度（Ph Eur 2.2.1）、色（Ph Eur 2.2.2）、pH（Ph Eur 2.2.3）、細菌内毒素（Ph Eur 2.6.14）およびバイオバーデン（Ph Eur 2.6.12）。

すべての非公定分析法は十分に説明されています。これらの分析メソッドは、ICH Q2（R1）で提示されたパラメータに対して適切に検証されました。

ポリ（A）テールの定量化のための技術的手順は、一般的に十分に説明されていると考えられていますが、意図された目的に対するこの方法の適合性はまだ確認されていません（ **SO2）**。

バッチ分析

バッチ結果は、非臨床毒物学、臨床試験、プロセス性能認定（PPQ）、緊急供給および安定性に使用される活性物質バッチについて提示されます。

一般に、商用プロセス（プロセス2）を使用して得られた結果は、いくつかの例外を除いて、バッチ間の一貫性を示しています。

参考資料

現在の参照標準は、Clinical Reference Material（CRM）と呼ばれています。安定性プロトコルが提供されます。申請者は、要求に応じて、将来の参考資料の準備と資格に関するプロトコルなどの追加情報を提供することに同意しました（ **REC12）**。

将来的には、将来の商用参考資料 のための2層システムが実装されます。有効成分参照物質については、一次標準物質（PRM）と初期作業標準物質（WRM）が確立されます。

コンテナ閉鎖

コンテナ閉鎖システムに関する情報は受け入れられます。Ph。Eurへの準拠。検証済みです。

安定

提示された限られた安定性データに基づいて、-20±5°Cでの貯蔵寿命は、市販の容器閉鎖システムに保管された場合の活性物質について承認することができます。安定性プログラムは、ICHガイドラインに従うように設計されています。使用される試験方法は安定性を示すものです。Andover、Mainz、Rentschlerのサイトからのデータが含まれています。

申請者は、臨床バッチで試験が現在進行中であり、一次プロセス検証バッチで利用可能な新しいデータだけでなく、これらのバッチのデータで書類が更新されると述べていることに注意してください。熱サイクル研究が開始されており、少なくとも1つのプロセス検証バッチが将来的に光安定性研究の対象となります。

提示された安定性データに基づいて、-20±5°Cでの貯蔵寿命は、市販の容器閉鎖システムに保管された場合の活性物質について承認することができます。

2.2.3。完成した医薬品

製品の説明と医薬品開発

BNT162b2完成品（FP）は、筋肉内注射の前に希釈される防腐剤を含まない5用量の複数回投与濃縮物として提供されます。最終製品は、水性凍結防止剤バッファー中のRNA含有脂質ナノ粒子（LNP）の無菌分散液です。

pH 6.9〜7.9の最終製品0.45 mLを含む各バイアルは、1.8 mLの滅菌0.9％塩化ナトリウム溶液を総量に加えて希釈した後、合計5回分を投与するように設計されています。
2.25mL。各用量には、0.3mLに30μgのRNAが含まれています。

バイアルの過剰充填は、これらの希釈および投与ステップ中に生成物が失われる可能性を考慮して、希釈後に5回分すべてを複数回投与バイアルから取り出して正しく投与できるようにするために必要です。過剰充填の正当性は十分に議論されており、許容できると考えられています。申請者の開発データと完成品のテストにより、バイアルから5回分を一貫して抽出し、希釈後に送達できることが確認されています。

完成品は、ブロモブチルゴム栓で密封された2 mLガラスバイアルと、フリップオフプラスチックキャップ付きのアルミニウムシールで供給されます。

賦形剤の完全なリストは、上記のセクション2.2.1にリストされています。ALC-0315およびALC-0159（機能性脂質）、DSPCおよびコレステロール（構造脂質）、塩化カリウム、リン酸二水素カリウム、ナトリウム

塩化物およびリン酸ニナトリウムニ水和物（緩衝液成分）、ショ糖（凍結防止剤）および注射用水。

機能性脂質ALC-0315とALC-0159、および構造脂質DSPCを除くすべての賦形剤は、Ph。Eurに準拠しています。機能性脂質添加剤ALC-0315およびALC-0159は、新規添加剤として分類されます。構造脂質DSPCとコレステロールの両方が、すでに承認されているいくつかの完成品に使用されています。DSPCが新規の賦形剤であると見なされない理由についての正当化が提供されました。DSPCは、EU承認の完成品OnpattroのLNPの一部として使用され、この製品の筋肉内投与量よりもはるかに高い投与量で静脈内投与されます。さらに; 構造的に関連する脂質であるDOPCは、筋肉内投与のためにEUで承認された完成品に含まれています。したがって、DSPCに提供される情報のレベルは、

バイアル、ストッパー、シールのコンポーネントは、適切なPh。Eurに準拠しています。一次コンテナとクロージャーのモノグラフ。

製剤開発

製剤開発のセクションでは、選択した製剤について説明および正当化し、十分に包括的です。

脂質ナノ粒子を含むRNAの製剤開発研究は徹底的に説明されています。LNPは4つの脂質で構成され、それぞれに機能的または構造的な目的があります。形成されたRNA含有LNPは固体粒子です。さらに、これまでに蓄積されたバッチデータは、サイズと多分散性の両方に関して脂質ナノ粒子の一貫した製造を示しています。

脂質関連の不純物が最終製品で特定され、特性評価されています。潜在的な根本原因を評価およびレビューするための調査が開始され、現在進行中です。調査の結果が提供されなければならない（SO2）。

視覚的な粒子状物質は、完成品のバッチで時折観察されています。特性データが提示され、制御戦略が議論されました。データは、粒子が完成品配合物の成分で構成されていることを示しています。製造時に100％目視検査を実施し、自動検査システムを更新して検査を改善しています。定期的な放出または定期的な安定性データは、保管後に粒子が形成される傾向が低いことを示しています。希釈ワクチンで粒子が観察された場合は、バイアルを廃棄する必要があります。

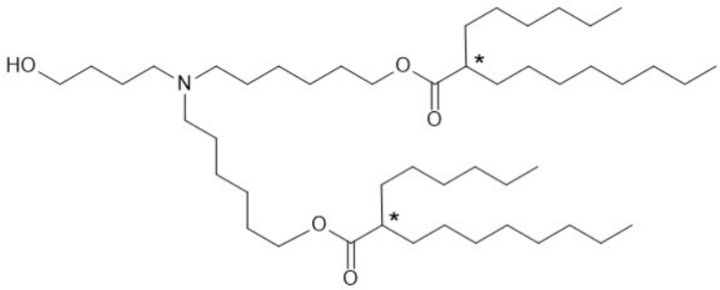
新規添加剤

最終製品には、カチオン性脂質ALC-0315とPEG化脂質ALC-0159の2つの新規賦形剤が含まれています。新規添加剤に関する限られた情報が提供されています。

ALC-0315（カチオン性脂質）

ALC-0315の新規賦形剤は、3級アミンと2つのエステル部分（（4ヒドロキシブチル）アザネジイル）ビス（ヘキサン-6,1-ジイル）ビス（2-ヘキシルデカノエート）を含むカチオン性脂質です。

図1ALC-0315の構造



Asterisks (*) indicate chiral centers.

化学合成の簡単な説明が提供されます。サプライヤーは書類で定義されています。同様の製造プロセスが、臨床および商用の完成品バッチのALC-0315に使用されます。

純度プロファイルを確認し、完成品のライフサイクル全体で包括的な品質管理とバッチ間の一貫性を確保するために、申請者は、賦形剤ALC-0315の合成プロセスと管理戦略に関する追加情報を提供する必要があります。（（ **SO4）**

提案された仕様は、入手可能なデータに基づいて許容できると見なされます。ただし、提供する必要のある仕様に関する追加情報（ **SO4）**。

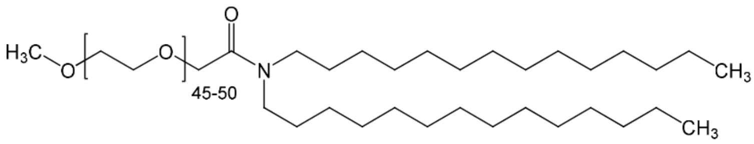
あるサプライヤーの安定性データは、ALC-0315が推奨される保管条件で保管された場合に安定していることを示しています。さらに、賦形剤は室温で安定しており、さらなる製造工程での使用に適しています。あるサプライヤーの安定性データは、別のサプライヤーの脂質を代表するものと見なされます。

脂質関連の不純物は、ALC-0315脂質バッチと相関して、最近製造されたいくつかの完成品バッチで観察されています。ALC-0315添加剤の品質は、最終製品の特定の不純物がさらに評価されるという条件で入手可能なデータに基づいて許容できると見なされます（ **SO2）**。

ALC-0159（PEG化脂質）

ALC-0159の新規賦形剤は、PEG化脂質2 [（ポリエチレングリコール）-2000] -N、Nditetradecylacetamideです。

図2ALC-0159の構造



化学合成の簡単な説明が提供されます。

サプライヤーは書類で定義されています。同じサプライヤーが、臨床フェーズ1、2、および3の研究の開発中に使用されました。完成品の開発を通じて、ALC-0159にも同じ合成ルートが使用されました。

純度プロファイルを確認し、完成品のライフサイクル全体で包括的な品質管理とバッチ間の一貫性を確保するために、申請者は、賦形剤ALC-0159の合成プロセスと管理戦略に関する追加情報を提供するよう求められます。

（SO5）

提案された仕様は、入手可能なデータに基づいて許容できると見なされます。ただし、不純物管理戦略を改善し、完成品のバッチ間の一貫性を確保するために、提供する必要のある仕様に関する追加情報があります（ **SO5**）。

安定性データは、ALC-0159が推奨される保管条件で保管された場合に安定していることを示しています。

製造工程の開発

完成品の開発履歴が十分に記載されています。このプロセスは、後の臨床材料の製造、緊急供給、および商業供給のために商業施設に移管されました。完成品ロットの系統と使用法に関する表が提供されています。

申請者は、リリーステストと拡張された特性評価方法の組み合わせによる段階的なアプローチで比較可能性が実証されていると述べています。比較可能性は十分に実証されており、わずかな違いしか認められていないことに同意します。

現在の規制手続き中に、最近製造された多数のGMPバッチのリリーステスト結果が提示されました。GMPバッチのリリースデータは、臨床バッチおよび緊急供給ロットの結果と比較されます。記載されている違いは、FP仕様に含まれるすべてのテストでわずかであり、テストされ、パンデミックの状況が与えられた場合に、さらに説明する特定の義務に従って、比較可能性が十分に実証されていることに同意します。さらに、完成品の将来のバッチでの追加の特性テストにより、比較がさらに拡張されます。 **SO3**）。

この製品の緊急の必要性とパンデミックの状況のた め、同時検証アプローチが使用されます。このアプローチの理論的根拠は文書化されており、合意されています。この同時アプローチでは、個々の検証の実行ごとに中間レポートを文書化する必要があります。すべての評価を要約し、製造されたすべてのバッチのデータの比較可能性評価を含む、サイトごとの全体的なレポートが編集されます。最後に、この計画にリンクされた最終レポートが作成され、さまざまな検証レポートからのすべての調査結果が要約されます。商業規模のバッチのプロセス検証（PPQ）が開始され、1つのPPQ検証バッチからの要約レポートが提供されました。

要約すると、商業施設で許容可能な検証プログラムが確立され、1つのPPQ検証バッチからの要約レポートが提供された場合、プロセス検証に関する情報は、MAHが追加の検証を提供する必要があるという合意された特定の義務に従って許容可能と見なされます。データ（ **SO3**）。

製造プロセスの開発について詳しく説明し、重要なプロセスパラメータを定義します。個々の単位操作のスケールダウンモデルを使用したプロセス特性評価研究が実施されました。

全体的な管理戦略が提示されましたが、PPQおよび追加の特性調査が完了した後、一部のパラメーターと範囲が更新される可能性があります。全体的な管理戦略の評価については、データと情報の完全なセットが必要です。このドキュメントは、最終決定時に評価されます。最終データセットの提供のタイムプランは、申請者と合意されています（ **SO3**）。

完成品の分析試験戦略は開発を通じて変更され、これらの変更が説明されています。変更または置換された分析テスト（サブビジブル粒子、コード化されたRNA配列の同一性およびRNAの完全性）について、ブリッジング研究が実施されました。これは許容範囲です。

コンテナ閉鎖システム

コンテナ閉鎖システムの開発は十分に提示されています。一次包装はガラスバイアルとゴム栓で構成されており、Ph。Eurの公定要件に準拠しています。

制御された抽出研究は、ブロモブチルゴム栓で実施されました。申請者は、評価のために浸出物研究からの最新の結果を提供します。（（ **REC13）**

微生物学的属性

2 mLの容器閉鎖の提示が不可欠であることを実証するために、容器閉鎖の完全性試験が実施されました。

管理戦略を改善するために、MAHは、代替の無菌試験、すなわち実施前の評価のための迅速な無菌試験の検証結果を提供する必要があります（ **REC14）**。

互換性

記載されている研究は、元のガラスバイアル中の0.9％塩化ナトリウム溶液、および一般的に使用されている市販の投与成分で希釈した後、臨床現場での投与量と投与に最悪の場合の条件を使用して、FPの物理化学的安定性を評価するために実施されました。希釈されていない完成品の解凍保持時間（使用期間）は、2〜8°Cで5日、最大30°Cで2時間と定義されています。

提示された結果は、2〜8°Cで最大5日間の使用中の解凍保持時間の後、周囲温度または冷蔵温度（2〜30°C）で最大24時間、0.9％塩化ナトリウム溶液で希釈したFPの物理化学的安定性をサポートします。そして30°Cで2時間。

投与コンポーネント（注射器と針）との互換性は、最大6時間確立されています。さらに、微生物学的な使用中のホールドタイム研究は、5つの公定微生物を含むチャレンジテストによって実行されました。接種から12時間以内に、希釈したFPを20〜25°Cで保存した微生物のいずれについても、有意な増殖（開始点から> 0.5log10）は観察されませんでした。

0.9％塩化ナトリウム溶液。したがって、微生物学的な使用中の保持時間研究の結果に基づいて、製品情報に反映されているように、周囲温度で最大6時間の提案された使用期間が合意されます。さらに、申請者は、使用期間が開封された複数回投与ワクチンバイアルの使用に関するWHOポリシーと一致していることも述べています（WHOポリシーステートメント：複数回投与バイアルポリシー（MDVP）-複数回の取り扱い開封後のワクチンバイアルの投与、rev

2014）。

完成品の適合性は、実施された希釈および投与シミュレーション研究によって許容できるほど実証されています。

製品の製造とプロセス管理

完成品は、ベルギーのプールスにあるファイザーマニュファクチャリングベルギーNVまたはドイツのマインツにあるBioNTech ManufacturingGmbHによってバッチリリースされます。完成品の製造および試験現場のGMPステータスが確認されています。

完成品の製造プロセスには、次の主要なステップが含まれます：活性物質の解凍と希釈、LNPの形成と安定化、バッファー交換、濃縮ろ過、濃度調整と凍結防止剤の添加、滅菌ろ過、無菌充填、目視検査、ラベリング、凍結、保管。重要な製造ステップについて説明し、関連する工程内管理を適用します。

関係書類を更新して、使用するASバッグとバッチの範囲数、使用するフィルターフィルター表面の構成、プロセス制御など、バッチサイズの増加に関する詳細を提供する必要があります（ **REC14**）。 残差のテストがないことは許容できると見なされます。

出荷の検証

このセクションでは、完成品の製造および梱包サイトから投与サイトへの-90〜-60°Cの温度条件での航空および道路輸送用のパッシブサーマル輸送コンテナによるBNT162b2完成品の輸送の出荷プロセスの適格性の概要を示します。 EUで。

輸送中および配送場所での-90〜-60°Cの意図された通常の出荷条件外の短期間の期間が定義されています。

-90〜-60°Cの出荷温度範囲は、入手可能な安定性データに基づいています。

輸送中は、1回の解凍と再凍結のサイクルが許可されます。解凍せずに意図した保管および出荷温度範囲（-90〜-60°C）外の輸送中の時間は、複数の転送および輸送中の再配布とその後の転送間の-90〜-60°Cへの再凍結の指定された時間および条件で許可されます。温度変動許容値は、データによってサポートされています。

選択された出荷方法には、断熱材とドライアイスの組み合わせによって製品の温度を維持するように設計された輸送コンテナが含まれます。申請者は、これらのパッシブ熱輸送の経験があり、製品の出荷中に-90〜-60°Cの温度範囲を維持することを実証しました。これには、出荷および取り扱い中に時折見られるわずかな出荷遅延や極端な温度への短時間の暴露が含まれます。

すべての出荷は、温度データロガーを使用して継続的に監視されます。

全体的な認定戦略では、パッシブ熱輸送における輸送の熱的側面と機械的側面の両方が考慮され、運用認定と性能認定テストによってサポートされています。出荷資格戦略の概要が提供されています。

パッシブ熱輸送の場合、認定は、最悪の季節に周囲温度プロファイルにさらされたときに、指定された相変化材料またはドライアイスで必要な温度を維持するパッシブシステムの能力に焦点を当てています。これらの研究は、夏を最悪の場合の周囲プロファイルとしてシミュレートするために、実験室で実施されます。

シミュレートされた流通調査は、最悪の場合の延長輸送レーンで概説された期間に従って、シミュレートされた流通ハザード条件にさらされた後の完成品とパッケージの完全性を実証しました。

熱認定の結果は、指定された受け入れ基準を満たし、パッシブ熱輸送輸送コンテナを直接または使用して、BNT162b2完成品の出荷をサポートしています。

資格のある配送センター経由。出荷の熱的側面と機械的側面の両方を評価する出荷認定を完了するために、パッシブ熱輸送性能認定とシミュレートされた出荷調査の完成品衝撃試験が実施されました。

保管と出荷のプロセスパラメータは許容範囲内です。

メディアがいっぱい

メディア充填は、無菌充填プロセスを検証するために充填ラインに対して実行され、ガイドラインに従って実行されました。結果は3つの連続したシミュレーション研究から提供され、汚染されたユニットなしで満足のいく結果をもたらしました。メディアフィルの結果は、完成品の製造の最大プロセス時間をカバーし、最悪の場合の製造条件をシミュレートします。メディア充填の検証により、充填プロセス中に無菌状態が維持されることが実証されました。充填ラインの場合、最大時間はメディア充填認定調査の完了時に設定されます。これは許容範囲です。

工程内試験方法の検証

工程内試験方法の検証に関するデータは、現在の規制手続きの時点で保留中であり、2021年第2四半期中に提供される必要があります（ **REC15** ）。

ホールドタイム

保留時間が設定されています。このセクションの変更は、バリエーションアプリケーションを介して代理店に提出する必要があることに注意してください。

プロセス検証計画

FPプロセス検証計画が提供されています。

この製品の緊急の必要性とパンデミックの状況のた め、同時検証アプローチが使用されます。このアプローチの理論的根拠は文書化されています。この同時アプローチでは、個々の検証の実行ごとに中間レポートを文書化する必要があります。すべての評価を要約し、製造されたすべてのバッチのデータの比較可能性評価を含む、サイトごとの全体的なレポートが編集されます。最後に、この計画にリンクされた最終レポートが作成され、さまざまな検証レポートからのすべての調査結果が要約されます。

商業規模のPPQバッチは、2020年12月から2021年1月の間に製造されることが書類に記載されており、申請者はプロセス検証計画を提供しています。完成品の製造プロセスの一貫性を確認するために、申請者は2021年3月までに追加の検証データを提供する必要があります。（ **SO3** ）

フィルタの検証

滅菌ろ過に使用されるフィルターのフィルター検証手順中に、材料、細孔サイズ、表面積を説明する許容可能な情報が提供されています。すべての研究結果は所定の許容基準を満たし、微生物の保持、膜の適合性、抽出可能な物質、および完全性試験の決定に関する研究は、フィルターが最終製品の無菌ろ過に適していることを示しています。さらに、申請者は、バイオバーデン削減に使用されるフィルターが滅菌ろ過に使用されるフィルターと同一であることを明確にしました。

MAHは、フィルター検証の評価結果が利用可能になり次第、提供する必要があります（ **REC23** ）。

添加剤の管理

ALC-0315およびALC-0159は新規の賦形剤であり、以前はEU内で承認された完成品に使用されていませんでした。追加情報は、書類のセクションA.3に別途記載されています。

DSPCは、社内仕様によって十分に管理されている非公定の添加剤です。

Ph。Eurによれば、コレステロールは十分に管理されています。残留溶媒と微生物汚染の追加テストを含むモノグラフ。

他の賦形剤（ショ糖、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リン酸ニナトリウムニ水和物、リン酸二水素カリウム、および注射用水）は、それぞれのPh。Eurに従って管理されています。モノグラフ。

処理助剤のエタノールとクエン酸緩衝液は、Ph。Eurに従って管理されています。標準およびHEPESおよびEDTAについては、活性物質が参照されます。

製品仕様書

BNT162b2完成品のリリースおよび安定性テスト仕様には、外観（視覚）、外観（可視粒子）、サブビジブル粒子（Ph。Eur。）、pH（Ph。Eur。）、浸透圧（浸透圧測定）、LNPサイズ（動的）のテストが含まれます。光散乱）、LNP多分散性（動的光散乱）、RNAカプセル化（蛍光アッセイ）、RNA含有量（蛍光アッセイ）、ALC-0315含有量（HPLC-CAD）、ALC-0159含有量（HPLC-CAD）、DSPC含有量（HPLC -CAD）、コレステロール含有量（HPLC-CAD）、抽出可能量（Ph。Eur。）、脂質の同一性（HPLC-CAD）、コード化されたRNA配列の同一性（RT-PCR）、効力/ in Vitro発現（細胞ベースのフローサイトメトリー）、RNA完全性（キャピラリーゲル電気泳動）、細菌エンドトキシン（Ph。Eur。）、滅菌性（Ph。Eur。）、およびコンテナー閉鎖完全性（色素侵入）。 RNAの完全性を除いて、安定性についてテストされたすべての品質属性について、貯蔵寿命全体にわたる放出および安定性テストの許容基準は同じです。

関係書類のセクション3.2.P.5.1にある完成品の仕様書には、関連するテストの包括的なパネルと、対応する合格基準が含まれています。

浸透圧、容器内の注入量、HPLC-CAD（脂質の同一性）およびRT-PCR（コード化されたRNA配列の同一性）を除いて、FPの放出時にのみ実行され、他のすべての分析手順は放出および安定性の研究で実行されます完成品用。申請者は、貯蔵寿命中の安定性に使用される許容基準は、ロットリリースに使用される許容基準と同じであると述べています。

FP仕様の許容基準に関連するいくつかの質問が手順中に提起されました（すなわち、LNPサイズ、多分散性、RNAカプセル化、in vitro発現、およびRNA完全性）。合格基準が厳しくなりました。

効力、RNAの完全性、RNAのカプセル化、脂質含有量、多分散性指数については、管理戦略を強化するための追加情報を提供することで一貫した製品品質を確保するために、2021年第2四半期に合格基準が再評価されます。これは、特定の義務を条件として許容できると判断されます。（（ **SO2）**

バイアルには、製品情報に沿った希釈および投与後に必要な全量（5回分）を確実に送達できるように、オーバーフィルが含まれています。完成品の仕様には、バイアルから抽出可能な量が5回分を提供することを確認するためのテストが含まれています。手続き中に、申請者は、バイアルから最大6回分を送達できることを示すために製品情報と使用説明書を更新することを提案しました。製品情報に対するこの提案された変更は、6回の投与量を一貫して抽出できることを実証するための裏付けとなるデータが提供されなかったため、容認できるとは見なされませんでした。このような製品情報の変更をサポートするには、抽出可能なボリュームの仕様制限を更新するためのバリエーションを提出する必要があります。 **REC21）**。

N-ニトロソアミン不純物のリスクに関するリスク評価が提供され、活性物質を考慮に入れると、完成品にニトロソアミンが存在するリスクはないと結論付けられました。

物質、完成品の処方および一次包装。リスク評価は許容できると見なされます。

ICH Q3Dのセクション5.1に概説されている一般原則に基づいて、活性製品中の元素不純物の潜在的な存在に関してリスク評価を提供することをお勧めします（ **REC17** ）。

LNPの分解に起因する脂質関連不純物に関する情報や議論が書類に提供されていなかったため、手順中に質問が提起されました。申請者は、LNPの分解に起因する潜在的な脂質関連不純物に関して、推奨保管温度（-70〜-90°C）での安定性研究でLNPFPの分解は観察されていないと主張しています。サイズと多分散性、RNAカプセル化、RNAと脂質の含有量、およびRNAの完全性の品質属性の仕様で示されるLNP。これは認められています。さらに、最終製品中の脂質関連不純物のさらなる評価を実施し、特定の義務の枠内で結果を提出して議論する必要があります（ **SO2** ）。

分析手順

使用された分析方法は、ICHガイドラインに従って適切に説明され、（非公定の方法で）適切に検証されています。

バッチ分析

関係書類には、最近製造された4つのGMPバッチのリリーステスト結果が含まれています。これらの完成品のGMPバッチは、商業用FP製造サイトで製造されました。これらのGMPバッチのリリースデータは、小規模臨床バッチの最小-最大範囲および緊急供給ロットの結果と比較されます。記載されている違いは、FP仕様に含まれるすべてのテストでわずかであり、わずかであることに同意します。したがって、パンデミックの状況を考慮し、特定の義務の枠内でさらなるデータが提供されることを考慮すると、テストされた属性について比較可能性が十分に実証されていると結論付けることができます。さらに、完成品の将来のPPQバッチに関する追加の特性テストにより、比較がさらに拡張されます。申請者は、完成品の比較可能性試験プロトコルに従って試験が実施されることを確認しました。結果は特定の義務の枠内で提供されます

（**SO3**）。

参考資料

完成品の標準物質は有効成分と同じです。

製品の安定性

-90°Cから-60°Cの推奨保管条件で保管した場合、完成品の貯蔵寿命は6か月と提案されています。

申請者は、1つの臨床バッチの-80〜-60°Cで最大6か月、および完成品の非臨床バッチの最大6か月の安定性の結果を提供しました。推奨される保管条件下での2つの緊急供給についても2週間のデータが提供されます。さらに、最近製造されたGMPバッチの安定性研究が新たに開始され、将来のPPQバッチの安定性研究が開始される予定です。

安定性データは、加速（-40°C〜＋5°C）およびストレス（＋25°C〜＋30°C）の保管条件でも提供されています。

安定性試験は、ICH Q5C（バイオテクノロジー製品の品質：バイオテクノロジー/生物学的製品の安定性試験）および同じまたは代表的な容器に従って実施されます-

閉鎖システムは、商用バッチで使用されるように、これらの安定性研究で使用されます。使用される試験方法は安定性を示すものです。

全体として、提示された安定性データは、推奨される保管条件（-90〜-60°C）で、劣化の兆候、有意な傾向、または品質の変化がないことを示しています。

申請者は進行中の安定性研究から最新のレポートを提供し、商業規模のGMPバッチと小規模の臨床バッチの間で比較可能性が十分に実証されているため、提示されたデータは十分であり、貯蔵寿命の主張を支持すると見なされます。

さらに、解凍した未希釈のバイアルの最初の使用期間は、2〜8°Cで5日間で、その後、最大30°Cで2時間以内に保管します。これは許容範囲です。

化学的および物理的な使用中の安定性は、注射用の塩化ナトリウム9 mg / mL（0.9％）溶液で希釈した後、2ºC〜30ºCで6時間も実証されています。

将来のPPQロットは安定性プログラムに登録され、安定性プロトコルは書類で定義されていると説明されています。これは許容範囲です。ただし、申請者は、PPQバッチが利用可能になり次第、評価のために6か月の安定性データを提供することを約束する必要があります。（（ **REC20**）。 EU GMPガイドラインに従って、さらなる安定性の更新の要求にもかかわらず、確認された仕様外の結果、または重大な否定的な傾向は、報告者とEMAに報告する必要があります。

光安定性試験研究の結果が評価のために提供されることが申請者によって明確にされた（ **REC19**）。

申請者は、完成品の長期保管条件での温度が-70°Cから-20°Cに上昇する可能性を調査することをお勧めします。さらに、申請者は、2〜8°Cで5日間の使用中保管期間（希釈前）を延長する可能性、および2〜8°Cでの輸送条件のクレームを延長する可能性を調査する必要があります（ **REC22**）。

-90〜-60°Cでの完成品の6ヶ月の貯蔵寿命が許容されます。

不定のエージェント

AS製造現場および完成品製造現場に対して、外来薬剤の安全性評価が提供されています。

有効成分の製造およびMCBとWCBの確立に使用される試薬は、BNT162b2の製造に使用される動物由来の唯一の材料です。申請者は、伝達性海綿状脳症（TSE）剤による製品の汚染を、これらの成分に関連する主要な理論的リスクとして特定しており、リスクは最小限であると見なされています。

追加の説明が要求され、他の多くの資料について提供されました。

無菌検証の充填とメディアの充填に関する十分な詳細が提供されています。さらに、バイオバーデンとエンドトキシンの適切なテストは、製造プロセスのさまざまな段階で実行されます。したがって、追加の懸念は提起されません。

2.2.4。化学的、製薬的、生物学的側面に関する議論

手順の中で、有効成分の製造およびバッチリリースを目的とした最終製品の試験場所のGMPステータス、臨床材料と市販材料の比較可能性、および検証の欠如に関連する多くの問題が強調されました。商業現場で製造された完成品のデータ。これらの問題は、主要な異議（MO）として分類されました。

サイトと検査官からさらに情報が得られた後、製造に関する質問に対処し、すべての有効成分と完成品の製造およびテストサイトに対して製造許可とGMP証明書を設定しました。

バッチ制御テスト用に提案されたサイトのいくつかは、現在米国にあります。MAの条件として、次の期限付きの委任が導入されました。

' *国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態が宣言されていることを考慮し、早期供給を確保するために、この医薬品は期間限定の免除の対象となり、第三国にある登録サイトで実施されるバッチ管理試験に依存することができます。。この免除は2021年8月31日に無効になります。販売承認の条件の必要な変更を含むEUベースのバッチ制御の取り決めの実装は、合意された計画に沿って、遅くとも2021年8月31日までに完了する必要があります。このテストの転送のために。進捗レポートは2021年3月31日に提出し、年次更新申請書に含める必要があります。*

追加のデータは、他のMOおよび提起された他の質問に応じて、手続き中に申請者によって提出されました。

緊急事態と提供された品質文書を考慮した上で、CHMPは明確に定義された期日でいくつかの特定の義務（SO）を課しました（詳細については結論を参照してください）。さらに、CHMPは、申請者が取り組むべきいくつかの勧告（REC）を採用しました。

さらに、指令2001/83 / ECの付属書Iおよび規則（EC）No 726/2004の第16条に従って、有効成分および最終製品がプロセスおよび方法によって製造および管理されていることを確認する必要があります。科学的および技術的進歩の最新の状態に準拠しています。結果として、製造プロセスと管理（仕様を含む）は、製品の一貫性と、少なくとも臨床試験で安全かつ有効であることが示されている製品品質を保証するように設計され、製造プロセスと管理にその後の変更を導入するものとします。必要です。

有効成分

全体として、提供された情報は満足のいくものです。ただし、製品開発の期間が非常に短いため、特定の情報はまだ保留中であり、書類で間もなく更新されるか、特定の義務やその他の承認後の措置でさらに対処されます。

アンドーバーとBNTマインツ＆レンシュラーの製造現場の製造プロセスとプロセス制御に関する情報が提供されており、満足のいくものと見なされています。

開発中に2つの有効成分プロセスが使用されました。プロセス1と2。ASプロセス1と2の間の主な変更点は、プロセススケールの増加、DNAテンプレートがPCRテンプレートから線形化されたプラスミドDNAに変更され、磁気ビーズ精製がプロテイナーゼK消化に置き換えられたこととUFDFステップです。CQA mRNAの完全性と特性データの欠如について、有効成分プロセス1と2で製造されたバッチ間で観察された違いに基づいて、提案された1つの許容基準の比較可能性、特性評価、および臨床的適格性に関してMOが提起されました。活性物質の生物学的特性は限られており、機能性に対処するために追加のデータと議論が要求されました。 *試験管内*で 発現アッセイ（ **SO1）**。

トランケートされたRNA種は、製品に関連する不純物と見なされ、製造中のin vitro転写反応（すなわち、指向性ポリメラーゼ活性）および（理論的）加水分解の原理により期待できます。RNase処理サンプルの分析は、すべての種が検出されたことを示しました

キャピラリーゲル電気泳動（CGE）ベースの方法によるRNAで構成されています。断片化された種に関する製造の一貫性は十分に実証されています。

トランケートされたRNA種のレベルにはいくつかの違いがありましたが、さらに分析すると、プロセス1とプロセス2の活性物質バッチ間で同等の全体的な断片化プロファイルが明らかになりました。さらに、オリゴヌクレオチドマッピングデータは、プロセス1とプロセス2の活性物質バッチ間で観察された有意差を示さなかった。

同社は、最終製品に配合されたトランケートされた転写物が安全性や有効性の懸念をもたらすとは考えていません。さらに、プロセス1の材料を使用した臨床試験では、これまでのところ主要な安全上の懸念は明らかにされていません。5 'キャップまたはポリ（A）テールのいずれかを欠くトランケートされたBNT162b2 RNA種は、細胞質での分解の標的となるか、翻訳効率の低下または喪失を示すと予想されます。分離されたフラグメント種の予備的な特性データは、フラグメント種が主に5 'キャップを含むが、ポリ（A）テールを欠いていることを示唆しており、ほとんどのフラグメントがIVT反応の早期終了から生じるという仮説を支持しています。

ただし、トランケートされた種の全体的な特性評価はまだ限られているため、トランケートされた種の追加の分析、追加の翻訳タンパク質の特性評価、脂質関連不純物の追加の特性評価、および潜在的な脂質RNA種を提供して、臨床パフォーマンスに影響を与えないことをサポートする必要があります。安全性および/または有効性の。現在の仕様では、特定のレベルのトランケートされたmRNA種が存在することが許可されていますが、最近のバッチのデータでは、そのレベルを下回るトランケートされた種のレベルが示されています。これまでのところ、特定のレベルの短縮種を含むワクチンを接種した被験者を対象とした臨床試験では、関連する安全性の問題は確認されていません。したがって、 **SO1）**。

入手可能なデータに基づいて、活性物質の提案された仕様は、ルーチンの放出試験のために選択された属性に関して受け入れられます。ただし、BNT162b2活性物質のポリ（A）テールの長さは、RNAの安定性と翻訳効率にとって重要であるため、特定の義務の枠内での活性物質放出試験に導入する必要があります（ **SO2）**。 さらに、進行中の臨床試験からさらにデータが入手可能になり、製造プロセスの能力に沿って、有効成分仕様の許容限度を再評価し、必要に応じて改訂する必要があります（ **SO2）**。

出願人は、臨床バッチで試験が現在進行中であり、これらのバッチのデータ、ならびに一次プロセス検証バッチで利用可能な新しいデータが提供されると述べていることに留意されたい。提示された限られた安定性データに基づいて、有効成分の貯蔵寿命が承認されています。

完成品

完成品は、筋肉内注射用に希釈される防腐剤を含まない複数回投与濃縮物であり、5回投与を目的としています。最終製品は、水性凍結防止剤バッファー中のRNA含有脂質ナノ粒子（LNP）の無菌分散液です。

脂質ナノ粒子を含むRNAの製剤開発研究は、mRNAプラットフォームを代表し、最終製品に含まれる利用可能な活性物質を使用して実施された研究を含め、徹底的に説明されています。

製造プロセスの開発について詳しく説明し、重要なプロセスパラメータを定義します。

製造プロセスには、脂質ナノ粒子の製造とバルク完成品の処方、それに続く充填と仕上げが含まれ、プロセスは容認できる形で説明されています。

市販の完成品と臨床の完成品の比較可能性は、テストされた属性について十分に実証されており、特定の義務が課せられます。

商業施設で製造された完成品バッチに関する限られたデータ（商業規模での商業サイトファイザー、プールスでの製造プロセス全体、プロセス2からの活性物質）が提示されました。PPQロットのプロセス検証計画が提供されています。

この製品の緊急の必要性とパンデミックの状況のた め、同時検証アプローチが使用されます。このアプローチの理論的根拠は文書化されています。この同時アプローチでは、個々の検証の実行ごとに中間レポートを文書化する必要があります。すべての評価を要約し、製造されたすべてのバッチのデータの比較可能性評価を含む、サイトごとの全体的なレポートが編集されます。最後に、この計画にリンクされた最終レポートが作成され、さまざまな検証レポートからのすべての調査結果が要約されます。

完成品の製造の一貫性を結論付け、市販製品と臨床試験で使用された製品との比較可能性を保証し、主張された完成品の貯蔵寿命と保管条件をサポートするために、さらなるデータが要求されました。PPQロットのプロセス検証計画が提供されています。商業規模のバッチのプロセス検証（PPQ）が開始され、1つのPPQ検証バッチからの要約レポートが提供されました。

要約すると、ベルギーのプールスにある商業施設も含む許容可能な検証プログラムが確立され、1つのPPQ検証バッチからの要約レポートが提供されたことを考えると、プロセス検証に関する情報は、合意された特定の義務に従って許容可能と見なされます。 MAHが追加の検証データを提供する必要があること（ **SO3**）。

完成品の仕様には、関連するテストの包括的なパネルと、対応する合格基準が含まれています。最終製品仕様の合格基準に関連するいくつかの問題、すなわち、LNPサイズ、多分散性、RNAカプセル化、in vitro発現、およびRNA完全性が提起されました。その後、FP仕様が修正され、全体的に許容できることが判明しましたが、進行中の臨床試験からさらにデータが入手可能になり、製造プロセスの能力に沿って、許容限界を再評価し、必要に応じて修正する必要があります（ **SO2**）。

LNPには2つの新規添加剤が含まれています。カチオン性脂質ALC-0315とPEG化脂質ALC-0159の両方について完全な情報は提供されていません。完成品のライフサイクル全体にわたる包括的な管理を保証し、バッチ間の一貫性を確保するために、特定の義務に沿った合成プロセスと管理戦略に関する詳細情報を提出する必要があります（ **SO4、SO5**）。

最近製造されたいくつかの完成品バッチでは、脂質関連の不純物が観察されています。脂質関連不純物を含むバッチの場合、RNAの完全性を含む既存の品質管理パラメーターは変更されません。

上記および緊急事態を考慮すると、有効成分および最終製品の特性評価は許容できると見なされ、RNA完全性および5 'キャップの提案された仕様は科学的に正当化され、許容できると見なされます。それにもかかわらず、有効成分と最終製品の特性評価を完了するための追加データ、および進行中の臨床研究で現在使用されているバッチからの追加の臨床データは、これらの仕様の臨床適格性を確認するために重要であると見なされます。これらのデータは、適用される条件付き販売承認に対する特定の義務として提供されることが要求されます（ **SO1、SO2**）。

プロセスからのワクチンの臨床バッチを使用して、有効性、安全性、および免疫原性が実証されました
1.市販のバッチは、異なるプロセス（プロセス2）を使用して製造され、これらのプロセスの比較可能性は、活性物質と最終製品の同等の生物学的、化学的、物理的特性の実証に依存します。

活性物質と最終製品の特性評価と管理は、重要な品質属性と不純物に関連して制限されています。効力とポリ（A）テールの制御に使用される分析方法の適合性は十分に実証されていません。

データは、臨床試験で使用された材料と比較して、商業的プロセスで製造されたバッチにおいて、いくらか高いレベルで、かなりの量の短縮型/修飾型のmRNAが存在することを示しています。これらの形態は十分に特徴付けられておらず、タンパク質発現について提供された限られたデータは、意図されたスパイクタンパク質以外のタンパク質/ペプチドを翻訳するリスクに関連する不確実性に完全には対処していません。

有効成分と完成品の管理戦略は、許容可能な品質を保証し、完成品のバッチ間の一貫性を確保するために重要です。提案された管理戦略に関して、使用された試験方法の適合性といくつかの試験の合格基準の両方に関して質問が提起された。

上記に基づいて、以下の不確実性がベネフィットリスク評価にとって重要であると考えられます。

- トランケートおよび修飾されたRNAは不純物として存在します。低用量のmRNA（30 µg）を考慮すると、不純物は一般的な毒物学的原理に基づく安全性の問題とは見なされません。ただし、細胞内に存在する場合、異常なタンパク質が発現し、望ましくない免疫学的イベントが発生する可能性があります。これが発生するリスクは、以下の観察と考慮事項に基づいて低いと見なされます。

    - このような不純物は、第3相臨床試験で使用されたワクチンに許容可能な安全性プロファイルで存在していました。特性評価の欠如は完全な比較可能性評価を妨げますが、これらの不純物の性質に重要な質的差異があるという兆候はありません。

    - これらの不純物の高レベルは、転写ステップとその後の両方でRNAフラグメントの生成をもたらすRNAの不安定性を反映しています。電気泳動データに基づくと、断片の多様なセットがあるようです。確認されていませんが、これらのRNA分子の大部分が無傷の5 'キャップと3'-ポリAを持つmRNA分子である可能性は低いです。

    - 個々の異常なmRNA種のレベルは、無傷のmRNAのレベルよりも何らかの形で低くなり、これはタンパク質発現のレベルによって反映されます。タンパク質の量は、免疫応答を引き出すには少なすぎると予想されます。スパイクタンパク質は免疫原性の高いタンパク質であり、免疫優勢により、異常なタンパク質に対する免疫応答が重要ではないことも確認されます。

- 最近製造された最終製品バッチで脂質関連不純物が観察されました。低用量（30 µg mRNA）に基づいて、これらの不純物の量は毒性学的に重要であるには少なすぎると考えられます。

2.2.5。化学的、製薬的および生物学的側面に関する結論

現在の（COVID-19）パンデミックの緊急事態で提出されたこの医薬品の品質は、上記の特定の義務を条件として、十分に一貫性があり、許容できると見なされます。

一般に、製品の臨床性能に関連する物理化学的および生物学的側面が調査され、許容可能な方法で管理されています。特性データはまだ

完了する必要があり、実施された試験の結果は、製品の品質特性の一貫性を示しており、これらは、品質の観点から、製品が満足のいく臨床性能を有することが期待されるという結論につながります。

提出された情報は、現在製造されている製品バッチが適切であり、臨床開発バッチの品質に十分に匹敵する品質であることを示しています。ただし、将来のバッチの品質も適切であり、医薬品のライフサイクル全体にわたって臨床開発バッチの品質に匹敵することを保証するために、定義された時間枠内で特定の義務を履行することにより、多くの問題に対処することが期待されます。

CHMPは、医薬品の安全で効果的な使用に潜在的な影響を与える可能性があり、したがって製品の包括的な医薬品（品質）データと管理を達成するために必要な、特定された品質開発の問題に対処するための次の特定の義務を特定しました。 。課せられた特定の義務を果たすために取り組む必要のある特定のポイントを以下に詳述します。

さらに、規則（EC）No 726/2004の第16条に従い、MAHは、完成品の仕様を早期に厳しくするなど、関連する医薬品の品質に影響を与える可能性のある情報を庁に通知するものとします。これは、技術的および科学的進歩を考慮に入れ、一般に受け入れられている科学的方法によって医薬品を製造およびチェックできるようにするために、販売承認の条件を変更する一般的な義務にも関連しています。

条件付きマーケティング承認のコンテキストでは、申請者は次の特定の義務（SO）を履行する必要があります。

- SO1：有効成分と最終製品の特性評価を完了するために、MAHは追加のデータを提供する必要があります。 **期日：2021年7月。中間報告：3月**
  2021年。
- SO2：一貫した製品品質を確保するために、MAHは、有効成分や最終製品の仕様など、管理戦略を強化するための追加情報を提供する必要があります。 **期日：2021年7月。中間報告：2021年3月。**
- SO3：完成品の製造プロセスの一貫性を確認するために、MAHは追加の検証データを提供する必要があります。 **期日：2021年3月。**
- SO4：純度プロファイルを確認し、完成品のライフサイクル全体で包括的な品質管理とバッチ間の一貫性を確保するために、MAHは添加剤ALC-0315の合成プロセスと管理戦略に関する追加情報を提供する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年1月、2021年4月。**
- SO5：純度プロファイルを確認し、完成品のライフサイクル全体で包括的な品質管理とバッチ間の一貫性を確保するために、MAHは添加剤ALC-0159の合成プロセスと管理戦略に関する追加情報を提供する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年1月、2021年4月。**

SO1に関しては、有効成分と最終製品の特性に関する情報を完成させるために、以下のデータが要求されます。

a）最終製品に存在する短縮型および修飾型mRNA種をさらに特徴づけるために、追加のデータが提供されます。データは、臨床試験で使用されるバッチ（特性データが以前に利用可能であった可能性がある）およびPPQバッチをカバーすることが期待されています。これらのデータは、5 'キャップレベルとポリ（A）テールの存在に対処するイオンペアリングRP-HPLCの結果に対処する必要があります。これらのデータは、への翻訳の可能性にさらに対処する必要があります

切り捨てられたS1S2タンパク質/ペプチドまたは他のタンパク質/ペプチド。優勢な種に関連するタンパク質/ペプチドの特性データを提供する必要があります。翻訳されたタンパク質（意図されたスパイクタンパク質以外）と、分子模倣のために自己免疫プロセスを引き起こす可能性のあるヒトタンパク質との間の相同性を評価する必要があります。 **期日：2021年7月。中間報告：2021年3月、および月次ベース。**

b） 全長RNAを表すRNA完全性テストのメインピークの分析も、5 'キャップレベルとポリ（A）テールの存在に対処して行う必要があります。 **期日：2021年7月。中間報告：2021年3月**

c） 活性物質の追加データは、によって得られた観察されたウエスタンブロット（WB）バンドの同一性を確認するために提供されます。 *試験管内*で 発現アッセイ。タンパク質の不均一性は、WBに広いバンドをもたらし、スパイクタンパク質の理論上の無傷の分子量に不確実性をもたらしますが、これはグリコシル化によるものと考えられます。したがって、タンパク質の同一性をさらに確認するには、発現したタンパク質の酵素的脱グリコシル化とそれに続くWB分析を行う必要があります。無傷のS1S2タンパク質の計算された分子量との相関関係を実証する必要があります。 **期日：2021年7月。中間報告：2021年3月**

SO2に関しては、有効成分や最終製品の仕様を含む包括的な管理戦略を確実にするために、以下のデータの提供が求められます。

a）有効成分と完成品の仕様の許容限度は、進行中の臨床試験からさらにデータが利用可能になり、製品の製造プロセス能力と安定性データに沿って、必要に応じて再評価および改訂する必要があります。適切な数の市販バッチのバッチ分析と、（進行中の）臨床試験で使用されたバッチの分析を含む包括的なデータを提供する必要があります。 **期日：2021年7月、中間報告2021年3月、および月次ベース。**

b） ポリ（A）テールの長さは重要な属性と見なされており、これまで同等の結果が得られたとしても、バッチごとに制御する必要があります。poly（A）の長さを制御するための有効成分の仕様を導入する必要があります。適切な方法を開発し、適切な受け入れ基準を設定する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年3月**

c） poly（A）テールのパーセンテージは重要な属性と見なされますが、メソッドの適合性には不確実性が残っています。%poly（A）テールに使用される方法の適合性をサポートするために追加のデータを提供するか、代替の適切なアッセイを開発して導入する必要があります。%poly（A）テールは、将来の有効成分プロセスの変更に続いて特徴付けられる必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年3月**

d） mRNAの完全性と多分散性は医薬品の有効性のCQAであるため、進行中の臨床試験からさらにデータが入手可能になり、製造プロセスの能力に合わせて、これらのパラメーターの最終製品の許容基準を改訂する必要があります。

期日：2021年7月中間報告：2021年3月。

e） 効力測定に使用される方法の適合性を裏付けるために追加のデータを提供するか、この目的のための代替の適切なアッセイを開発して導入する必要があります。次に、効力の完成品の受け入れ基準をそれに応じて修正する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年3月**

f） 脂質関連の不純物はさらに評価する必要があります。適切な管理戦略を導入し、適切に正当化し、2021年第2四半期の評価に提供する必要があります。 **期日：7月**

2021年、中間報告（商用FPバッチのLMSコンテンツ、調査結果）：2021年3月、および月次ベース。

SO3に関しては、バッチ間の一貫性を確保し、完成品製造プロセスのプロセス検証に関する情報を完成させるために、以下のデータを提供する必要があります。

a）完全な商業規模の完成品PPQバッチは、ベルギーの商業施設ファイザープールスで製造されます。申請者は、完了した商業規模のプロセス検証活動に関する要約レポートを提供する必要があります。 **期日：2021年3月。**

b） 申請者は、拡張された比較可能性テストプロトコルに従って完成品のバッチである将来のプロセス検証のテストを実行する必要があり、結果は評価のために提供される必要があります。 **期日：2021年3月。**

SO4に関しては、不純物管理戦略を改善し、完成品のライフサイクル全体で包括的な品質管理とバッチ間の一貫性を確保するために、添加剤ALC-0315の合成プロセスと管理戦略に関するデータを提供する必要があります。製品。

a） ALC-0315の化学合成の詳細な説明（試薬やプロセス条件に関する情報など）を提供する必要があります。 **期日：2021年1月**

b） 2つのサプライヤー間の製造プロセスの違いを説明し、不純物プロファイルへの影響の可能性について話し合う必要があります **2021年7月まで。中間報告：2021年1月**

c） 出発原料（一般的な合成ルート、サプライヤー、仕様など）と溶媒の品質管理に関する情報と正当性を提供する必要があります。 **期日：2021年7月 中間報告：2021年1月**

d） 重要なステップと中間体（仕様を含む）に関する情報と正当化を提供する必要があります。 **期日：2021年7月 中間報告：2021年1月**

e） 特定の不純物をさらに評価し、より多くのデータが利用できる場合は、個々の不純物の適切な仕様限界を含める必要があります。指定および非指定の不純物の許容基準は、ALC-0315の仕様に追加する必要があり、安定性の研究中にも評価する必要があります。 **期日：2021年7月 中間報告：2021年4月**

f） より多くのバッチデータが利用可能になり、必要に応じて改訂されると、総不純物の仕様限界を再評価する必要があります。 **期日：2021年7月**

g） 完成品の品質管理戦略を改善するために、提供されたバッチデータに基づいてアッセイの仕様限界を厳しくする必要があります。 **期日：2021年7月**

h） ALC-0315のアッセイ、不純物、および残留溶媒の詳細なメソッドバリデーションレポートを提供する必要があります。 **期日：2021年7月**

私） ICHガイドラインに従った安定性研究の結果を提供する必要があります。 **期日：2021年7月 中間報告：2021年4月**

SO5に関しては、不純物管理戦略を改善し、活性製品のライフサイクル全体にわたって包括的な管理とバッチ間の一貫性を確保するために、ALC-0159の合成プロセスと管理戦略に関して以下のデータを提供する必要があります。

a） ALC-0159の化学合成の詳細な説明（試薬やプロセス条件に関する情報など）を提供する必要があります。 **期日：2021年1月**

b） 出発原料（一般的な合成ルート、サプライヤー、仕様など）と溶媒の情報と品質管理を提供する必要があります。分子量と多分散性に関連する許容基準は、出発物質のカルボキシ-MPEGの仕様に含まれている必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年1月**

c） 重要なステップと中間体（仕様を含む）の情報と正当化を提供する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年1月**

d） 最終製品のより厳格な品質管理を提供するために、バッチデータに基づいてアッセイの仕様制限を厳しくする必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年4月**

e） 特定の不純物をさらに評価し、より多くのデータが利用できる場合は、個々の不純物の適切な仕様限界を含める必要があります。指定および非指定の不純物の許容基準は、ALC-0159の仕様に追加する必要があり、安定性の研究中にも評価する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年4月**

f） より多くのバッチデータが利用可能になり、必要に応じて改訂されるため、総不純物の仕様限界を再評価する必要があります。 **期日：2021年7月**

g） テトラヒドロフランの許容基準は、特に正当化されない限り、ALC-0159の仕様に追加する必要があります。これは、テトラヒドロフランが合成のステップ2で溶媒として含まれているためです。 **期日：2021年1月**

h） ALC-0159のアッセイ、不純物、残留溶媒の詳細なメソッドバリデーションレポートを提供する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年4月**

私） ICHガイドラインに従った安定性研究の結果を提供する必要があります。 **期日：2021年7月中間報告：2021年4月**

2.2.6。将来の品質開発のための推奨事項

技術的および科学的進歩を十分に考慮に入れるという販売承認保有者（MAH）の義務の文脈において、CHMPは調査のために以下の点を推奨します。

有効成分

1.1。 MAHは、出発物質の適切な微生物学的管理を確実にするために、関連する試験戦略を実施する必要があります。

2.2。 MAHは、FPの製剤バッファーに含まれるHEPES（ファイザー）原料にRNaseの混入がないことを確認するために、関連するテスト戦略を実装する必要があります。

3.3。 MAHは、2021年第1四半期までに、関連するすべての製造サイトで製造プロセスで使用される酵素の放出試験のための社内機能活性分析法を実装する必要があります。MAHは、線形DNAテンプレートの純度と不純物の仕様を再評価する必要があります。申請者は、2021年
4.4。 第2四半期までにこれらを供給することにすでに同意しています。

5.5。 MAHは、ギャップ分析を実行および文書化して、DNAテンプレート制御に使用される方法をICH要件に合わせるために必要な補足資格を特定する必要があります。特定されたギャップは、メソッドを関連サイトに転送する前、または転送アクティビティ中に対処する必要があります。

6.6。 MAHは、最終化されたものに関する有効成分プロセス検証データを提供する必要があります

間接的なフィルター認定評価とサイト間の出荷検証。

7。 MAHは、DNase消化ステップの堅牢性を高めるために実行された研究の結果を提供する必要があります。

8.8。 MAHは、ATPおよびCTPのターゲットボリュームの実証済みの許容範囲の下限を、有効成分の製造プロセスで十分に高いmRNAの完全性を確保するために必要なレベルまで厳しくする必要があります。

9.9。 MAHは、活性物質の正しい、より豊富なRNAの存在下で、代替配列の少量のRNA種を検出する次世代シーケンシングテクノロジープラットフォームの機能を包括的に説明する必要があります。

10. MAHは、細胞ベースのフローサイトメトリーの結果とアッセイの適合性、および活性物質のタンパク質発現の生物学的特性評価に使用されるウエスタンブロット法について話し合う必要があります。

11. MAHは、BNT162b2活性物質中の二本鎖RNA（dsRNA）を検出するために使用されるイムノブロット分析手順の妥当性確認/検証ステータスの要約を提供する必要があります。

12.管理戦略を改善するために、MAHは、有効成分の将来の一次および作業参照基準の準備と認定に関するプロトコルを提供する必要があります。

完成品

13.完成品の浸出物研究からの更新された結果は、評価のために提供されるべきです。

14.完成品のバッチ間の一貫性を確保するために、MAHは製造プロセスの説明をより詳細に拡張する必要があります。（1）バッチサイズが元のサイズの2倍の場合、解凍する有効成分バッグと有効成分バッチの範囲数、およびミキサーの数を記載する必要があります。（2）MAHは、完成品の製造に使用されるフィルターの構成を確認する必要があります。（3）滅菌フィルターの表面積は、特に正当化されない限り、バッチサイズに適合させる必要があります。（4）特に、バッチサイズと並行してTFFを数回実行する場合は、希釈前のRNA含有量のプロセス制御が重要です。

15.第1四半期の評価のために、工程内試験方法の検証に関するデータを提供する必要があります。

2021年。

16.管理戦略を改善するために、MAHは、実施前の評価のために、迅速な無菌試験の検証計画フェーズ2の結果を提供する必要があります。

17. ICH Q3DおよびPh。Eurのセクション5.1に概説されている一般原則に基づいて、活性製品中の元素不純物の潜在的な存在に関してリスク評価を提供する必要があります。モノグラフ医薬品（2619）。このリスク評価の要約を提出する必要があります。リスクアセスメントは、ガイドラインに従って、関連するすべての要素とソースをカバーする必要があります。要約では、ガイドラインに記載されているPDEと、観測または予測されたレベルを定量的に比較できるようにする必要があります。仮定、計算など、リスク評価の適切性と完全性を評価するために必要なものが含まれている必要があります。元素不純物の管理戦略は、リスク評価に基づいて正当化する必要があります。

18. MAHは、完成品試験のための将来の一次および作業参照資料の準備と認定に関するプロトコルを提供する必要があります。

19.完成品の安定性に関する詳細情報を提供するために、完成品の光安定性試験および温度サイクル研究の結果を2021年第1四半期の評価のために提供する必要があります。

20.申請者は、完成品プロセスの性能認定バッチの6か月の安定性データを、入手可能になり次第、評価のために提供する必要があります。

21.この申請者は、最大6回の投与が可能であることを示すために製品情報の変更を提案しました

裏付けとなるデータが提供されなかったため、バイアルからの配送は許容できるとは見なされませんでした。製品情報のこのような変更をサポートするために、6用量の主張をサポートする適切な医薬品開発データによってサポートされる、抽出可能量の仕様制限を更新するためのバリエーションを提出する必要があります。

22. MAHは、完成品の長期保管条件での温度が-70°Cから-20°Cに上昇する可能性を調査する必要があります。さらに、MAHは、2〜8°Cで5日間の使用中の保管期間（希釈前）を延長する可能性、および2〜8°Cでの輸送条件のクレームを延長する可能性を調査する必要があります。

23. MAHは、フィルター検証の評価結果が利用可能になり次第、提供する必要があります。

2.3。非臨床的側面

GLP検査

重要な毒物学的研究は、申請者によってGLPに準拠していると述べられています。2020年11月に、試験が実施された施設で地元のドイツのGLPコンプライアンス監視機関によって実施された試験監査GLP検査につながった文書に関して、反復投与毒性試験＃38166による評価中に特定されたいくつかの問題がありました。問題に対するすべての回答は、CHMPによって承認されました。申請者は、これらの問題についてもコメントしました。提供されたすべての要素に照らして、特定された問題は解決されたと見なされました。

反復投与毒性試験＃20GR142に関して、特定された唯一の主要な懸念は、CHMPによって満足のいくものと見なされた申請者からの回答で解決されました。

2.3.1。薬理学

薬理学書類は、BNT162b2（V9）RNAベースの製品とコード化されたSARS-CoV-2 P2 Sタンパク質の機能性の初期研究、およびSARSCoV-2 P2Sタンパク質構造のサポート研究に基づいています。これに続いて、BNT162b2（V9）で免疫したマウスおよび非ヒト霊長類の体液性および細胞性免疫応答の特性を明らかにし、BNT162b2（V9）で免疫した非ヒト霊長類のSARS-CoV-2チャレンジ研究を行います。

該当するガイドライン（ワクチンの非臨床評価に関するWHOガイドライン、WHOテクニカルレポートシリーズ、No。 927、2005）。

作用機序

SARS-CoV-2は、スパイクタンパク質（S）を使用して体に感染し、特定の細胞表面受容体に付着します。最近示唆されているように、アンジオテンシン変換酵素2（ACE2）が主要な部分を構成している可能性があります。宿主細胞への最初の付着に加えて、Sタンパク質は宿主細胞膜とのウイルスエンベロープ融合にも関与し、ゲノム放出をもたらします。その不可欠な役割のために、Sタンパク質はウイルス中和抗体の主要な標的であり、ワクチン開発の重要な抗原になっています。Sタンパク質をコードする修飾RNA（modRNA）製品BNT162b2で免疫することにより、高親和性ウイルス中和抗体の強力で比較的長期的な産生を誘発することを目的としています。これは、Sタンパク質とその受容体結合ドメイン（RBD）と宿主細胞受容体との相互作用をブロックするだけでなく、オプソニン作用を介したウイルスクリアランスによっても作用します。さらに、BNT162b2による免疫化は、Th1型の付随するT細胞応答を誘発することも目的としており、ウイルス感染細胞を殺すS特異的抗体および細胞傷害性T細胞の産生に関与するB細胞をサポートします。

Sタンパク質は、標的細胞と結合する前に準安定プレフュージョンコンフォメーションで存在する三量体クラスI融合タンパク質です。BNT162b2は、RBDを融合前のコンフォメーションに固定するために2つの連続したプロリン変異が導入されたSのP2変異体（P2 S）変異体をエンコードします。さらに、BNT162b2は、ウリジンの代わりに1-メチルプソイドウリジンを使用することでヌクレオシド修飾されるため、トール様受容体（TLR）7や8などの自然免疫センサーへの結合によって媒介される固有のアジュバント活性は抑制されますが、無効にはなりません。さらに、BNT162b2のベクターバックボーンの構造要素は、抗原をコードするRNAの長期にわたる強力な翻訳用に最適化されています。

RNAワクチンの効力は、RNAを脂質ナノ粒子（LNP）にカプセル化することによってさらに最適化されます。これにより、RNA分解からRNAが保護され、筋肉内（im）送達後の宿主細胞のトランスフェクションが可能になります。機能的でイオン化可能な脂質であるALC-0315は、LNPが生理学的環境で中性電荷を帯びて内部移行を促進できるため、送達の主要な推進力として特定されています。エンドソーム環境は正電荷を示すため、RNAのサイトゾルへの移行を引き起こします（Midoux＆Pichon、2015; Hassett et al、2019; Patel et al、2019）; ALC-0159は、次の立体障害を提供するために配合に含まれています。1）製造および製品保管中の粒子サイズと均一性の制御を容易にします。

2）血漿およびタンパク質とLNP表面との結合を調節します。LNPの構成も、注入されたBNT162b2の分布に影響を与える可能性があります。さらに、LNP組成が全体的な免疫原性に寄与することを排除することはできません。

LNP製剤化RNAワクチンIMの投与は、好中球および抗原提示細胞（APC）の送達部位への動員を促進する一過性の局所炎症を引き起こします。リクルートされたAPCは、LNPの取り込みとタンパク質の発現が可能であり、その後、T細胞のプライミングが発生する局所的な流入領域リンパ節に移動する可能性があります。一般に、LNPのエンドサイトーシスに続いて、mRNAはエンドソームから宿主細胞の細胞質ゾルに放出されます（Sahay et al、2010; Maruggi et al、2019）。RNAワクチンによって誘発される免疫応答のプロセスは、マウスと非ヒト霊長類の両方のモデルで実証されています（Pardi et al、2015; Liang et al、2017）。

一次薬力学的研究

invitroでの一次薬力学的研究

BNT162b2（V9）RNAベースの製品の機能を確認するために、タンパク質発現、BNT162b2からのトランスフェクション頻度、およびSARS-CoV-2 P2Sタンパク質抗原の細胞表面発現を評価しました。HEK293T細胞のBNT162b2（V9）トランスフェクションは、抗S1モノクローナル抗体による非透過性細胞のフローサイトメトリー染色によって示されるように、SARS-CoV-2 P2Sが細胞表面に正しく発現していることを示しました。さらに、発現されたS1タンパク質の細胞内局在を調べた。BNT162b2-RNAを発現するHEK293T細胞での免疫蛍光実験によって検出されたように、Sタンパク質はERマーカーと共局在しており、Sタンパク質がER内で処理されていることを示唆しています。

一連の裏付けとなる研究では、BNT162b2 RNAがACE2結合部位（RBD）を真に発現するアミノ酸配列をコードするかどうかが調査されました。組換えP2Sは、BNT162b2RNAがコードするのと同じアミノ酸配列をコードするDNAから発現しました。本物のSタンパク質に結合することが知られているヒトACE2およびモノクローナル抗体はすべて、本物の提示されたP2Sタンパク質およびACE2結合部位を示したため、スパイクタンパク質（S）結合剤によるフローサイトメトリー染色。ACE2PDおよびB38mAbに結合するP2Sのナノモル親和性が低いことは、バイオレイヤー干渉法を使用して実証されました。

P2スパイクタンパク質をさらに構造的に特徴づけるために、DNAから発現された精製P2 Sの低温電子顕微鏡（cryoEM）調査が実施されました。によると、cryoEMは明らかにした

申請者、SARS-CoV-2スパイクタンパク質の融合前コンフォメーションに非常に似ている粒子集団。以前に公開された原子モデルを処理および改良されたcryoEMデータセットに適合させることにより、再構築されたモデルが得られ、融合前の完全長野生型SおよびP2変異を伴うその外部ドメインの報告された構造との良好な一致が示されました。融合前の状態では、RBDはヒンジのようなコンフォメーション運動を起こし、「上」位置（受容体結合のために開いている）または「下」位置（受容体結合のために閉じている）のいずれかになります。データセットの3次元分類では、1つのRBD「上」と2つのRBD「下」のコンフォメーションにある粒子のクラスが示されました。この部分的に開いたコンフォメーションは、三量体分子の20.4％に相当します。残りはすべてRBDの「ダウン」コンフォメーションでした。ＲＢＤが「ヘッドダウン」閉鎖コンフォメーションにある場合、強力な中和エピトープが記載されているが、「ヘッズアップ」受容体アクセス可能コンフォメーションは、潜在的により広い中和抗体標的を露出させる。BNT162b2をコードするP2Sで免疫すると、アップコンフォメーションとダウンコンフォメーションの両方に対する抗体が形成される可能性があると結論付けられています。

invivoでの一次薬力学的研究

BNT162b2（V9）の筋肉内投与後の体液性および細胞性免疫応答をマウスおよび非ヒト霊長類で調査しました。薬理学的動物モデル研究のためのマウスの選択と関連性は、RNAベースのワクチン開発のためのBALB / cマウスの適合性、投与量、および免疫化レジメンに関する深い知識に基づいていました。ヒト以外の霊長類は、より高次の種であり、ヒトとより密接に関連しており、ヒトの免疫応答をよりよく反映している可能性があるため、選択されました。毒物学試験種としてのラットの選択は、ワクチンの非臨床評価に関する世界保健機関（WHO）のガイダンス文書と一致しています（WHO、2005）。文書は、ワクチンに対する免疫応答を開始する種でワクチン毒性研究を実施することを推奨しています。

Balb / c、雌は0日目に0.2、1、または5 µgのRNA /動物のBNT162b2（V9）、またはバッファーのみ（n = 8）でIM免疫されました。免疫後7、14、21、28日目に血液サンプルを採取しました。SARS-CoV-2-RBDまたはS1に対するIgG抗体応答をELISAで分析しました。BNT162b2による免疫化は、ELISAによって検出されるようにS1およびRBDに結合するIgGを誘導し、免疫化後28日目に、表面プラズモン共鳴によって検出されるように、それぞれKD 12nMまたは0.99nM（幾何平均）の結合親和性を示しました。

BNT162b2に対する抗体応答と、SARSCoV-2感染を減らすその潜在的な能力をさらに特徴づけるために、本物のSARS-CoV-2を使用した研究では、BSL3封じ込めが必要なため、疑似ウイルス型中和アッセイ（pVNT）をウイルス中和の代理として使用しました。pVNTは、公開されているプロトコルに従ってSARS-CoV-2 Sタンパク質でシュードタイピングされた組換え複製欠損水疱性口内炎ウイルス（VSV）ベクターに基づいていました。BNT162b2免疫マウスの血清では、SARS-CoV-2-SVSV偽ウイルス中和抗体の用量依存的な増加が観察されました。14日目に、バッファーコントロールと比較した5 µg RNAで処理したグループの差は統計的に有意でした（p = 0.0010）。21日目と28日目、バッファーコントロールと比較して、1 µgおよび5 µgのBNT162b2で処理したグループの違いは統計的に有意でした。本物のSARS-CoV-2に対する偽ウイルスアッセイの関連性については議論されていません。技術的な理由から、中和抗体と非中和抗体の比率を決定することはできませんでした。

BNT162b2によるマウスの免疫化は、CD4 +およびCD8 + T細胞サブセットの両方のIFN-γ分泌細胞も誘導しました。これは後にELISPOTによって示されました *exvivo* 免疫後28日目のSタンパク質重複ペプチドプールによる脾細胞の再刺激。サイトカインプロファイリングは、28日目の脾細胞からのサイトカイン放出の多重分析によっても実行されました。高レベルのTh1サイトカインIFNγおよびIL-2が、微量のTh2サイトカインIL-4、IL-5およびIL-13が、Sで再刺激した後に検出されましたが、RBD重複ペプチドミックスでは検出されませんでした。はるかに高い免疫細胞応答

RBDドメインと比較してS1タンパク質に対して誘発されたものは、より大きな完全長Sペプチドミックスに有意に多くのT細胞エピトープが存在することで説明できます（さらに、S1はRBDドメインをカバーします）。細胞性免疫反応性は、中和抗体が後者にとってより重要であるRBDドメインに対してよりもS1に対してはるかに重要であることを強調する必要があります。さらに、TNFの分泌の上昇 α、 GM-CSF、IL-1β、IL-12p70およびIL-18は再刺激後に記録されました。BNT162b2（V9）で免疫したマウスのリンパ節に現れるB細胞とT細胞の免疫表現型を特徴づけるために、免疫後12日目にフローサイトメトリーで流入領域リンパ節細胞のB細胞とT細胞のサブセットを定量しました。コントロールと比較して、BNT162b2を投与されたマウスからのサンプルでは、 より多くのB細胞が観察されました。これには、形質細胞、クラススイッチIgG1およびIgG2a陽性B細胞、胚中心B細胞が含まれます。T細胞数、特に胚中心の形成に不可欠な役割を果たすICOSアップレギュレーションを伴うサブセットを含むT濾胞ヘルパー（Tfh）細胞の数が増加しました（Hutloff2015）。

非ヒト霊長類（アカゲザル）の研究では、BNT162b2（V9）は筋肉内投与後に免疫原性であることが示されました。S1結合抗体価とSARS-CoV-2中和抗体価の両方の血清濃度は、アカゲザルのBNT162b2免疫後、SARS-CoV-2回復期ヒト血清のパネルよりも少なくとも1桁高かった。この研究では、総抗体応答はluminexアッセイを使用して測定され、結果はU / mlで表され、中和アッセイの結果はVNT50で表されます。

マカクのBNT162b2免疫後の抗原特異的S反応性T細胞応答は、ELISPOTおよびICSによって測定されました。S特異的T細胞はナイーブ動物では低かったか検出できませんでしたが、BNT162b2の2回目の30または100 µg投与後に、強いIFNγが最小限のIL-4ELISpot応答が検出されました。細胞内染色（ICS）により、BNT162b2免疫が強力なS特異的IFNγ産生T細胞応答を誘発することが確認されました。これには、IFNγ、IL-2、またはTNF-αを産生するCD4 + T細胞の頻度が高いが、IL-を産生するCD4 +細胞の頻度は低いことが含まれます。 4.4。CD8 + T細胞応答を産生するS特異的IFNγも記録されました。

アカゲザルでのチャレンジ研究は、非臨床の概念実証（PoC）として実施されました。アカゲザルは、Sタンパク質のRBDと相互作用するヒトACE2配列と100％の相同性を共有しています。BNT162b2（V9）で免疫したマカクは、BNT162b2で2回目の免疫を行ってから55日後に鼻腔内および気管内にSARS-CoV-2でチャレンジしました。アカゲザルは、臨床ワクチン接種レジメンに合わせるために、0日目と21日目に免疫されました。他のいくつかのCOVID-19ワクチン候補は、ChAdOx1（Graham et al。、2020）とmRNA-1273（Corbett et al。、2020）の両方で4週間など、プライムブースト間隔が異なります。チャレンジの時点で、SARS-CoV-2中和力価はBNT162b2（V9）で免疫された動物で260から1,004の範囲でした。中和力価は、対照免疫群およびセンチネル群の動物では検出できなかった。SARS-CoV-2 RNAの存在は、鼻および中咽頭（OP）スワブおよび気管支肺胞洗浄（BAL）によってモニターされました。ウイルスRNAは、チャレンジ後3日目に3匹の対照免疫マカクのうち2匹から、6日目に3匹中1匹からBAL液で検出されました。BNT162b2（V9）からのBAL液でウイルスRNAが検出された時点はありませんでした。免疫され、SARS-CoV-2でチャレンジされたマカク。チャレンジ後のBNT162b2免疫および対照免疫アカゲザル間のBAL液中のウイルスRNA検出の違いは、統計的に有意です（p = 0.0014）。コントロールで免疫したマカクから、SARS-CoV-2チャレンジ後1、3、6日目に得られた鼻腔スワブでウイルスRNAが検出されました。BNT162b2（V9）で免疫したマカクから、ウイルスRNAは、チャレンジ後1日目に得られた鼻腔スワブでのみ検出され、3日目以降に得られたスワブでは検出されませんでした。OPスワブからのウイルスRNA検出のパターンは、鼻スワブの場合と同様でした。ウイルスRNAで検出されたワクチン誘発性疾患の増強の兆候は観察されませんでした。チャレンジ後の対照免疫動物とBNT162b2免疫動物の間のウイルスRNAレベルをノンパラメトリック分析（フリードマン検定）で比較し、p値はBAL液で0.0014、鼻腔スワブで0.2622、OPスワブで0.0007です。

チャレンジされた対照動物からのBAL液中にウイルスRNAが存在するにもかかわらず、免疫化または対照のチャレンジされた動物のいずれも、病気の臨床的兆候（体重変化、体温変化、血中酸素飽和度および心拍数）を示さなかった。申請者は、チャレンジされた対照動物からのBAL液中にウイルスRNAが存在するにもかかわらず、免疫化または対照のチャレンジされた動物のいずれにも臨床徴候がないことは、2〜4歳のオスのアカゲザルチャレンジモデルが感染モデルですが、臨床疾患モデルではありません。しかし、肺X線写真とコンピューター断層撮影（CT）によるさらなる調査が行われた。肺異常のX線写真による証拠は、チャレンジされたコントロールで観察されましたが、チャレンジされていないセンチネルでもチャレンジされたBNT162b2免疫動物でも観察されました。CTスコア信号は10日目/ EOPのコントロールと同じレベルでした。ワクチン誘発性の増強された疾患のX線写真による証拠は観察されなかった。

二次薬力学的研究

CHMPに受け入れられるBNT162b2を使用した二次薬力学研究は実施されませんでした。

安全性薬理学研究

BNT162b2では安全性薬理試験は実施されていません。申請者は、WHOガイドライン（WHO、2005）によれば、それらは必要であるとは見なされないと述べています。さらに、重要な臓器機能に関する所見は、反復投与毒性試験で記録されていません。したがって、安全性薬理学研究がないことは、CHMPによって承認されています。

薬力学的薬物相互作用の研究

BNT162b2を使用した薬力学薬物相互作用の研究は実施されていません。これはCHMPに同意します。

2.3.2。薬物動態

申請者は、血漿および肝臓における2つの新規LNP賦形剤ALC-0315（アミノ脂質）およびALC-0159（PEG-脂質）の薬物動態、ならびにラットにおけるそれらの排泄および代謝を決定しました。さらに、出願人は、２つの新規脂質（ラットにおける）の生体内分布、およびマウス（ＩＶ）におけるＬＮＰ製剤化された代理ルシフェラーゼＲＮＡの生体内分布、ならびに［ ^{3}H]-ラットにおける標識脂質ナノ粒子-mRNA製剤（IM）。

ワクチン候補BNT162b2を使用した従来の薬物動態または生体内分布の研究は行われていません。

PF-07302048_06Jul20_072424の研究では、申請者は、適格なLC-MS / MSメソッドを使用して、2つの新規LNP添加剤の定量をサポートしました。バイオアナリシス法は、GLP研究で使用するために適切に特徴付けられ、検証されているようです。

2つの新規LNP賦形剤ALC-0315およびALC-0159を使用したPK研究：

Wistar Hanラットに、LNPで処方されたルシフェラーゼをコードするRNAを1 mg / kgで、ALC-0315とALC-0159の濃度をそれぞれ15.3 mg / kgと1, 96mg / kgでIVボーラス注射しました。血漿、肝臓、尿および糞便中のALC-0315およびALC-0159レベルは、2週間までのさまざまな時点でLC-MS / MSによって分析されました。

ALC-0315およびALC-0159は、最初の24時間で血漿から急速に除去され、最初のt1 / 2はそれぞれ1.62時間および1.72時間でした。投与後24時間、最大血漿中濃度の1％未満しか残っていませんでした。ALC-0315およびALC-0159の末端除去t½がそれぞれ139時間および72.7時間の場合、24時間後にはより遅いクリアランス速度が観察されました。

血漿クリアランスに続いて、肝臓は、ALC-0315およびALC-0159が分布する主要な器官にあるように見えます。申請者は、肝臓に分配される線量の割合は、ALC0315では約60％、ALC-0159では約20％であると推定しています。観察された肝臓分布は、両方ともIM投与を使用した、生体内分布研究および反復投与毒性学からの観察と一致しています。

ALC-0315（アミノ脂質）の場合、肝臓で検出された最大濃度（294µg/ g肝臓）は、IV注射の3時間後に到達しました。ALC-0315は肝臓からゆっくりと除去され、2週間後、ALC-0315の濃度は依然として最大濃度の約25％であり、ALC-0315が約6週間でラット肝臓から除去されることを示しています。ALC-0159（PEG-脂質）の場合、肝臓で検出された最大濃度（15.2µg/ g肝臓）は、IV注射の30分後に到達しました。ALC-0159は、ALC-0315よりも早く肝臓から排出され、2週間後、ALC-0159の濃度は検出された最大濃度の約0.04％にすぎませんでした。申請者は、ALC-0315の長い半減期とその効果、パチシランとの比較に関する議論について話し合うように求められました。ブーストと治療後の避妊期間への影響と同様に。申請者は、ヒトに投与されるよりもはるかに多い用量（mg / kgベース）での反復投与毒性試験に基づいて、非臨床的安全性の問題はないと考えました。これはCHMPに受け入れられました。

両方のパティサラン脂質は、クリニックで本質的に同様のPKプロファイルを示し、強い二相性プロファイルと長い終末半減期を示しました。申請者によると、薬物動態データをさらに文脈化することは困難であり、したがって、用量の考慮を超えて、これらの分子の安全性を理解することは困難です。ヒトBNT162b2の用量と毒性試験で使用された用量（300-1000x）の間には大きな用量差があり、許容できる安全マージンを提供します。

さらに、毒性試験と臨床的に有効な用量（300〜1000倍）との間の用量の大きな違いを考えると、出願人によれば、追加免疫用量の投与が有意な蓄積につながる可能性は低い。最後に、申請者は、これらの結果は避妊の要件を支持しないという意見です。CHMPは、この立場に賛成であると判断しました。

尿中の脂質の検出可能な排泄はありませんでしたが、糞便中に変化せずに排泄された用量の割合は、ALC-0315で約1％、ALC-0159で約50％でした。

<u>LNPで処方されたルシフェラーゼ代理レポーターの生体内分布：</u>

LNPで処方されたmodRNAの生体内分布を決定するために、申請者は、マウスとラットの2つの異なる非GLP研究で、modRNAの分布を研究し、脂質組成が同一のLNPで処方された代理ルシフェラーゼmodRNAの生体内分布を決定しました。 BNT162b2（マウス研究）または[3H]標識脂質ナノ粒子-mRNA製剤の生体内分布（ラット研究）。

マウス研究では、グループごとに3匹の雌のBALB-cマウスを使用し、ルシフェラーゼタンパク質の発現は *インビボ* を使用した生物発光の読み出し *In Vivo* ルシフェラーゼ基質ルシフェリンの注入後のイメージングシステム（IVIS）。読み出しは、筋肉内注射の6時間後、24時間後、48時間後、72時間後、6日後、および9日後に左右の後肢にLNP製剤化ルシフェラーゼRNAを1µg（合計2µg）ずつ投与して行いました。

インビボ ルシフェラーゼの発現は、注射部位と肝臓領域のさまざまな時点で検出され、肝臓への排液を示しています。mRNA産物で予想されたように、ルシフェラーゼの発現は一過性であり、時間の経過とともに減少しました。注射部位でのルシフェラーゼシグナルは、注射部位を排出するリンパ節への分布を反映している可能性が高く、注射後6時間でピークに達しました。

緩衝液対照動物の約10000回。信号は最初の72時間はゆっくりと減少し、6日後と9日後、信号はさらに弱まり、バッファーコントロールを注射した動物から得られた信号の約18倍と7倍のレベルになりました。

肝臓領域からの信号は、注射の6時間後にピークに達し、注射の48時間後にバックグラウンドレベルに減少しました。肝臓の発現は、ラットのPK試験のデータと、可逆的な肝臓の空胞化とγGGTレベルの上昇を示すラットの反復投与毒性試験の結果も裏付けています。

生体内分布は、放射性標識LNPとルシフェラーゼmodRNAを使用してラットでも研究されました（研究185350）。48時間にわたる50μgのmRNAの単回投与の血液、血漿および選択された組織への分布を測定する放射性標識データは、生物発光法よりも感度が高いと考えられ、生物発光で観察されたよりも広い生体内分布パターンを示しています。48時間以上にわたって、注射部位からほとんどの組織への分布が起こり、組織の大部分は低レベルの放射能を示しました。

放射能は最初の時点（0.25時間）からほとんどの組織で検出され、結果は注射部位と肝臓が主要な分布部位であることを裏付けています。最大の平均濃度は、両性の各時点で注射部位に残っていることが見出された。ほとんどの組織で低レベルの放射能が検出され、血漿中の最大レベルは投与後1〜4時間で観察されました。48時間以上にわたって、分布は主に肝臓、副腎、脾臓、卵巣で観察され、最大濃度は投与後8〜48時間で観察されました。注射部位外の放射性標識LNP + modRNAの総回収率（注射用量の％）は肝臓（最大21.5％）で最大であり、脾臓（≤1.1％）、副腎（≤0.1％）および卵巣（≤0.1％）ではるかに少なかった。 ≤0.1％）。平均濃度と組織分布パターンは、男女間でおおむね類似していた。反復投与毒性試験（試験38166および試験20GR142）の卵巣では、ワクチン関連の肉眼的または顕微鏡的所見の証拠は見られず、DART試験では生殖能力への影響は確認されませんでした。

LNP製剤化されたルシフェラーゼmodRNAの免疫原性：

LNP製剤化ルシフェラーゼレポーターRNAをマウスにIM注射した後の自然免疫系の活性化を、L uminexベースのマルチプレックスアッセイで評価し、血清サンプル（-1日目（前）、6時間および9日目）のレベルをテストしました。次のケモカインおよびサイトカイン：MCP-1、MIP-1β、TNF-α、IFN-α、IFN-γ、IL-2、Il-6、IL-10、IL1-β、IP-10。申請者は、すべてルシフェラーゼRNAと一緒に処方された3つの異なるLNPをテストしました。結果は、BNT162b2（LNP8）で使用されるLNP製剤が、免疫後6時間でMCP-1、IL-6、およびIP-10のレベルをわずかに増加させたことを示唆しています。すべてのケモカイン/サイトカインレベルは、9日目にバックグラウンドレベルに低下しました。

自然免疫活性化に加えて、LNP製剤化ルシフェラーゼmodRNAは、9日目にマウスから単離された脾細胞で測定されたIFN-γT細胞応答（MHC I特異的ルシフェラーゼペプチドプールでチャレンジした場合）を誘導することができました。 ELISAで測定したところ、ルシフェラーゼ特異的IgGの形成は誘導されませんでした。

追加のhPBMC研究（R-20-0357）では、全体として、低レベルの炎症誘発性サイトカイン（TNF、IL-6、IFNγ、IL-1β）および低レベルまたは中レベルのケモカイン（IP-10、MIP-1β、MCP-1）は、探索的研究でアッセイしたときに分泌されました。 *試験管内*で3人のドナーからのヒトPBMCを使用した反応原性アッセイ。IP-10、MIP-1b、MCP-1は、感染後の抗原提示細胞のトランスフェクションのために、ドナー間で増加することが見られました。

2つの新規LNP賦形剤ALC-0315およびALC-0159の代謝：

LNPの2つの新規脂質、ALC-0315（アミノ脂質）とALC-0159（PEG-脂質）を評価するために、代謝研究が実施されました。modRNAまたはLNPの他の2つの脂質を使用した代謝研究は実施されませんでした。全体として、ALC-0159とALC-0315の両方が加水分解によって代謝されるようです

それぞれ、アミドまたはエステル官能基の代謝、およびこの加水分解代謝は、評価された種全体で観察されます。

新規賦形剤ALC-0159およびALC-0315の代謝を調べた *試験管内* で すべてマウス、ラット、サル、およびヒトからの血液、肝臓S9画分、および肝細胞を使用します。ザ・ *インビボ* 代謝は、LNPで処方されたルシフェラーゼをコードするmodRNAが使用されたラットの薬物動態研究から、ラットの血漿、尿、糞便、および肝臓で調べられました。

ALC-0315の代謝は、2つの連続したエステル加水分解反応を介して発生するようであり、最初にモノエステル代謝物が生成され、次に二重に脱エステル化された代謝物が生成されます。モノエステル代謝物が観察された *試験管内* でラットの血液、サルのS9画分、および *インビボ* ラット血漿およびラット肝臓において。二重に脱エステル化された代謝物が観察された *試験管内* で マウスおよびラットの血液中; サル肝臓S9画分; そして *インビボ* ラットの血漿、尿、糞便および肝臓で。その後の二重脱エステル化代謝物の代謝は、ラットの薬物動態研究からのみ尿中に観察されたグルクロニド代謝物をもたらした。さらに、ALC-0315の両方の加水分解反応の酸生成物である6-ヘキシルデカン酸が同定されました。 *試験管内* で マウスおよびラットの血液中; マウス、ラット、サルおよびヒトの肝細胞; マウス、ラット、およびヒトの肝臓S9画分。そして *インビボ* ラット血漿中。

ALC-0315は、すべての種および試験システムにおいて、肝ミクロソームおよびS9画分で120分以上（残り> 93%）、肝細胞で240分以上（> 93%残り）安定でした。

ALC-0159の主な代謝経路には、アミド結合の加水分解が含まれているようです。 *N*、*N*-ジテトラデシルアミン。この代謝物は、マウスとラットの血液、ならびにマウス、ラット、サル、およびヒトの肝細胞と肝臓S9で同定されました。

ALC-0159は、すべての種および試験システムにおいて、肝ミクロソームおよびS9画分で120分以上（残り> 82%）、肝細胞で240分以上（> 87%残り）安定でした。

2つの新規LNP賦形剤ALC-0315およびALC-0159の排泄：

LNPの2つの新規脂質、ALC-0315（アミノ脂質）とALC-0159（PEG-脂質）の排泄がラットPK研究で研究されました。排泄研究は、MODRNAまたはCHMPによって許容可能と見なされるLNPの他の2つの脂質を使用して実行されませんでした。

尿中の脂質の検出可能な排泄はありませんでしたが、糞便中に変化せずに排泄された用量の割合は、ALC-0315で約1%、ALC-0159で約50%でした。尿や糞便中にはほとんど変化のないALC-3015が検出されなかったため、ALC-0159よりもALC-0315の除去に代謝が大きな役割を果たす可能性があります。

2.3.3。毒物学

BNT162b2の毒物学的書類は、合計3つの極めて重要な毒物学的実験研究に基づいています。2回の反復投与毒性ラット試験と1回のDART生殖能力-EFDラット試験。反復投与毒性試験の試験物質はBNT162b2（1つの試験（試験38166）で100 µgの変異体8、2番目の試験（試験20GR142）で臨床的に関連する変異体9の30 µg）であり、修飾RNAで構成されています。脂質ナノ粒子（LNP）製剤で。バリアント間の違いは、コドンの最適化によるものです。LNPには4つの賦形剤が含まれており、そのうち2つは新規と見なされます（ALC-0315およびALC-0159）。

反復投与毒性

2つの一般/反復投与毒性試験では、ハンウィスターラットをBNT162b2に合計17日間（週3回投与）IM曝露した後、3週間回復させました。全体的に、

研究デザインには、BNT162b2のバリアント（V8またはV9バリアント）をそれぞれ含む単一の実験グループのみが含まれ、用量反応評価や、LNPのみまたはその新規添加剤の特定の実験グループは含まれていませんでした。試験物質に関連した死亡率または臨床徴候は観察されなかった（体温のわずかな上昇[<1C]を除く）。眼科的および聴覚的影響は見られませんでした。選択した動物モデルであるラットは、薬理学的書類では評価されていませんが、薬物動態書類では限定的な吸収/分布研究が実施されています。免疫原性は毒物学研究で評価されました。

体重と食物摂取量： 曝露により、D9で統計的に有意な絶対BWのわずかな減少（-6.8％から-11.3％; BNT162b2 V8）、あるいは弱い体重増加の減少[BNT162b2v9]が生成されました。食物摂取量の変化は観察されませんでした。

総病理学および臓器重量： 100ug BNT162b2V8および30ugBNT162b2 V9では、注射部位の組織は、可逆的に曝露の終わりに浮腫および紅斑を伴って肥厚/拡大しました。脾臓は、ワクチンの変異体と用量の両方で最大60％まで拡大（可逆的）しました。100ug（BNT162b2 V8）では、排液リンパ節と鼠径リンパ節の拡大も見られました。全体として、試験物質に関連している可能性が高い有意な免疫応答の兆候がありました。100ug（BNT162b2 V8）では女性の肝臓がわずかに肥大する傾向がありましたが、30ug（BNT162b2 V9）ではそうではありませんでした。

組織病理学： 100ug BNT162b2 V8では、注射部位にさまざまな炎症徴候（線維症、筋線維変性、浮腫、皮下炎症、表皮過形成など）が観察されました。また、17日目にほとんどのラットで坐骨神経の神経周囲組織と周囲の骨の炎症がありました。骨髄は細胞性の増加を示し、リンパ節は形質細胞症、炎症および細胞性の増加を示しました。脾臓は、17日目に半数の動物で造血の増加を示した。肝臓は、ALC0315の肝クリアランスに関連している可能性があるd17で肝細胞門脈周囲空胞形成を示した（回復中に完全に逆転した）。30ug BNT162b2 V9の組織病理学的評価では、100ug BNT162b2 V8と同様の結果が得られましたが、それほど広範囲ではありません（おそらく投与量が少ないため）。注射部位に軽度から中等度の炎症と浮腫が観察されました（通常は約3日後に解消されます）。リンパ節の形質細胞細胞性および胚中心細胞性に加えて、17日目の脾臓の造血細胞細胞性の増加は最小限から中程度でした（回復の終わりに可逆的）。骨髄の細胞性の増加は最小限でした。肝臓での可逆的な空胞化も観察された。

出願人は、門脈周囲の肝臓空胞化が両方の重要な研究で観察されたが、動物の肝臓/胆管損傷（細胞肥大、炎症）の顕微鏡的証拠または第1相研究からの臨床データとは関係がないと説明した。液胞は、PEGではなく肝臓でのALC-0315の蓄積の結果であると出願人によって考えられています。

30ugでの新しい発見は、d17での関節の最小限の被膜外炎症でした。

さらに、20GR142試験では、好中球、単球、好酸球、好塩基球の増加が観察されました。申請者の場合、20GR142試験で観察された好中球、単球、好酸球、好塩基球の増加は、BNT162b2投与に対する炎症/免疫応答に関連していました。同様の所見は、100μgのBNT162b2を投与された動物の38166試験でも確認されました。申請者は、好酸球および好塩基球の増加は、好中球の増加によって支配される炎症性白血病のマイナーな要素であると述べた。申請者はまた、これらの細胞の同定は追加情報を提供しないため、大きな未染色細胞の特徴付けは行われなかったことを通知した。CHMPはこれに賛成だと判断しました。

免疫原性： ラットを100ug BNT162b2 V8で処理すると、血清サンプル中のSARS-CoV-2中和力価（水疱性口内炎ウイルス（VSV）ベースの偽ウイルス中和アッセイに基づく）およびS1フラグメントとRBDに対するIgG抗体（ELISAに基づく）が生成されました。 。の治療

30 ug BNT162b2 V9のラットは、SARS-CoV-2中和抗体を生成しました（疑似ウイルス中和アッセイではありません）。

血液学： 30ug BNT162b2V9および100ugBNT162b2 V8では、赤血球量パラメーター（RBC、HGB、およびHCT）の低下と相まって、網状赤血球が中程度から強力に減少しました（48-74%、V9では指定されていません）。炎症/免疫応答に関連している可能性のある、分類されていない大きな細胞[LUC]、好中球、好酸球、好塩基球、およびフィブリノーゲンに中程度から強い増加（> 100%）がありました。変更は元に戻すことができました。V8では凝固への影響は観察されませんでしたが、V8およびV9ではフィブリノーゲンのわずかな増加が観察されました。

臨床病理学： 30ug BNT162b2V9と100ugBNT162b2 V8の両方で、血中の炎症誘発性急性期タンパク質（A1AGP、A2M）の非常に強力ですが可逆的な増加（> 100%）が見られました。また、炎症誘発性を示すものとして、わずかから中程度のアルブミン/グロブリン比の低下が両方の変異体で見られました。V8（100ug）曝露は、γGTレベルの増加（> 200%）とγGT酵素活性の増加およびASTレベルの増加（+〜19%）を引き起こしました。V9（30ug）曝露は、ASTおよびALPレベルのわずかから中程度の増加（+ 20-100%）をもたらし、肝臓への影響を示している可能性がありますが、γGTレベルの変化はありません。100ug V8曝露後のサイトカインレベル（IFNγ、TNFalpha、Il-1b、Il6、Il-10）に変化はありませんでした（V9では測定されていません）。100ug V8の場合、尿の変化は測定されませんでしたが、30ugV9のpHはわずかに中程度に低下しました。

遺伝毒性

遺伝毒性試験は提供されていません。ワクチン製剤の成分は脂質とRNAであり、遺伝毒性の可能性はないと予想されるため、これは許容範囲です。

新規添加剤ALC-0159には、潜在的なアセトアミド部分が含まれています。申請者が実施したリスク評価は、アセトアミドの遺伝毒性が高用量および慢性投与（1000mg / kg /日以上）に関連する文献データに基づいて、この賦形剤に関連する遺伝毒性のリスクが非常に低いことを示しています。最終製品中のALC-0159添加剤の量が少なく（50 µg /用量）、そのクリアランスが高く、製品の2回投与のみがヒトに推奨されているため、遺伝毒性リスクは非常に低いと予想されます。

生殖毒性

DART試験では、使用した試験物質はBNT162b1、BNT162b2、BNT162b3であり、雌ラットに交配開始前に2回、妊娠中にヒト臨床用量（30 µg RNA /投与日）で2回投与した。試験物質は、交配開始の21日前と14日前（それぞれM-21とM-14）にF0雌ウィスターラットに筋肉内（IM）投与され、その後妊娠日（GD）9とGD20に合計で投与された。 4回投与。サブグループはGD21で終了し、別の（同腹児）グループはPND21で終了しました。SARS-CoV-2中和抗体価は、交配直前の雌の大多数（M-14）、妊娠終了時のほとんどの雌と胎児（GD21）、および授乳終了時のほとんどの子孫（PND21）に見られました。 ）。各投与後、一時的に体重増加と摂餌量が減少した。発情周期または生殖能力指数への影響は観察されませんでした。これは過去の対照データ範囲（5.1%-11.5%）内でしたが、着床前損失の増加（〜2x）がありました（対照4.09%と比較して9.77%）。胎児（合計n = 21の母動物/同腹児）では、胃壁破裂、口/顎の奇形、右大動脈弓、および頸椎の異常の発生率は非常に低かったが、これらの所見は過去の対照データの範囲内であった。骨格所見に関しては、曝露群は、仙骨前椎弓の過剰腰椎肋骨、過剰腰椎肋骨、尾椎数<5の対照群レベルに匹敵していました。出生後の悪影響の兆候はありませんでした コントロール4.09%と比較して）これは過去のコントロールデータ範囲（5.1%-11.5%）内でしたが。胎児（合計n = 21の母動物/同腹児）では、胃壁破裂、口/顎の奇形、右大動脈弓、および頸椎の異常の発生率は非常に低かったが、これらの所見は過去の対照データの範囲内であった。骨格所見に関しては、曝露群は、仙骨前椎弓の過剰腰椎肋骨、過剰腰椎肋骨、尾椎数<5の対照群レベルに匹敵していました。出生後の悪影響の兆候はありませんでした コントロール4.09%と比較して）これは過去のコントロールデータ範囲（5.1%-11.5%）内でしたが。胎児（合計n = 21の母動物/同腹児）では、胃壁破裂、口/顎の奇形、右大動脈弓、および頸椎の異常の発生率は非常に低かったが、これらの所見は過去の対照データの範囲内であった。骨格所見に関しては、曝露群は、仙骨前椎弓の過剰腰椎肋骨、過剰腰椎肋骨、尾椎数<5の対照群レベルに匹敵していました。出生後の悪影響の兆候はありませんでした これらの所見は過去の対照データの範囲内でしたが、頸椎の異常。骨格所見に関しては、曝露群は、仙骨前椎弓の過剰腰椎肋骨、過剰腰椎肋骨、尾椎数<5の対照群レベルに匹敵していました。出生後の悪影響の兆候はありませんでした これらの所見は過去の対照データの範囲内でしたが、頸椎の異常。骨格所見に関しては、曝露群は、仙骨前椎弓の過剰腰椎肋骨、過剰腰椎肋骨、尾椎数<5の対照群レベルに匹敵していました。出生後の悪影響の兆候はありませんでした

子犬（PND21で終了）。現在、BNT162b2の胎盤移行に関する利用可能なデータがないことに注意してください。この情報は、SmPCのセクション5.3に反映されています。

ローカルトレランス

専用の局所耐性研究は実施されていません。ただし、局所耐性の評価は、反復投与毒性試験で実施されました。100ug BNT162b2 V8では、ほとんどが軽度から中等度の浮腫でしたが、場合によっては重度の浮腫がありました。重症度は2回目と3回目の注射で増加しました。30ug BNT162b2 V9曝露のデータは、それほど深刻ではないが同様の影響を示しました。

2.3.4。生態毒性/環境リスク評価

医薬品の環境リスク評価に関するCHMPガイドラインに準拠
人間が使用する場合（EMEA / CHMP / SWP / 4447100 Corr 2）、その性質上、ワクチンと脂質が環境に重大なリスクをもたらす可能性は低いです。したがって、環境リスク評価の研究は、この販売承認申請では提供されていません。これは許容できると考えられています。

2.3.5。非臨床的側面に関する議論

薬理学

提案された医薬品は、脂質ナノ粒子（LNP）を形成する機能的および構造的脂質で処方されたmodRNAで構成され、後者はmodRNAを分解から保護し、IM注射後の宿主細胞へのmodRNAのトランスフェクションを可能にすることを目的としています。LNPの構成は、注入されたBNT162b2の分布に影響を与える可能性があります。さらに、LNP組成が全体的な免疫原性に寄与することを排除することはできません（以下の毒物学も参照）。

LNP製剤化RNAワクチンの一般的な免疫活性化作用機序は文献に記載されています。LNPで処方されたRNAの投与は、一過性の局所炎症を引き起こし、好中球と抗原提示細胞（APC）の送達部位への動員を促進します。リクルートされたAPCは、LNPの取り込みとタンパク質の発現が可能であり、その後、T細胞のプライミングが発生する局所的な流入領域リンパ節に移動する可能性があります。一般に、LNPのエンドサイトーシスに続いて、mRNAはエンドソームから宿主細胞の細胞質ゾルに放出されます（Sahay et al、2010; Maruggi et al、2019）。RNAワクチンによって誘発される免疫応答のプロセスは、マウスと非ヒト霊長類の両方のモデルで実証されています（Pardi et al、2015; Liang et al、2017）。

プロのAPC以外の細胞がワクチン由来のスパイクタンパク質を一時的に発現するかどうか、したがって理論的な観点から、SARS-CoV-2感染細胞と比較して、以前にプライミングされたスパイクタンパク質反応性細胞傷害性T細胞の標的になる可能性もあります。現在、不明です。しかし、そのような有害な薬理学的反応の明白な兆候は、反復投与毒性試験または臨床試験で記録されていません。臨床試験では、1回目の投与で免疫学的にプライミングされた患者に2回目の投与が行われました。さらに、臨床試験では、ワクチン接種前にSARS-COV-2に対して血清陽性であったことが示された約270人の患者が現れました。これらの場合、宿主細胞でのスパイクタンパク質の発現は、スパイクタンパク質に対するプライミングされた免疫応答の存在下で起こったが、明白な有害な薬理学的応答は観察されていない。単回投与でのワクチン製品の量が少ないと、modRNA / LNPの分布が主に注射部位と移動するAPCに制限される可能性があります。modRNAは一過性に発現するため、持続的な発現は期待されません。

modRNAの構造的および生物物理学的特性に関して、概略図は5つの異なる配列がBNT162b2に含まれていることを示しており、そのうち2つはコード配列です。

V8およびV9変異体から得られたタンパク質発現に関しては、特定の免疫応答（総IgG結合Ab +中和抗体）が両方の変異体を持つ動物（マウスおよびラット）でスパイクSタンパク質に対して有意なレベルで得られ、インクルード *インビボ* スパイクSタンパク質の発現。追加の研究が提供され（R-20-0360）、さらに実証されました *試験管内で* タンパク質発現。トランスフェクション効率、発現速度、および細胞生存率を、さまざまなコンストラクト（saRNA、uRNA、modRNA V8およびV9）でトランスフェクションしたHEK293T細胞で分析しました。HEK293T細胞は、modRNA V8とmodRNAV9の両方で効率的にトランスフェクトされ、V9のトランスフェクション率は高くなりましたが、V8とV9の発現率は非常に似ていました。

ワクチン抗原としてのP2Sの構造的および生物物理学的特性のいくつかが提供されていますが、製品modRNAではなくDNAから発現されたP2Sに基づく支持研究で調査されました。この手順での評価にとって決定的に重要であるとは考えられていませんが、SARS-CoV-2中和抗体やSARS-CoVなど、体液性および細胞性免疫応答の非臨床的重要研究をサポートする科学的理解を提供します。 -2非臨床PoCに挑戦します。

インビボ薬力学： BNT162b2（V9）の筋肉内投与後の体液性および細胞性免疫応答をマウスおよび非ヒト霊長類で調査し、RNAベースのワクチン開発に対するBALB / cマウスの適合性、投与および免疫療法に関する深い知識に基づいていました。ヒト以外の霊長類は、ヒトとより密接に関連する高次の種であり、ヒトの免疫応答をよりよく反映している可能性があるため、選択されました。これは受け入れられていますが、これらの薬理学的動物モデルの適合性に関するより詳細な議論は提供されていません（例えば、SARS-CoV-2感染の感受性およびCOVID 19疾患との類似性、Th1またはTh2の歪んだ応答に対する潜在的なバイアス特定のマウス系統について十分に特徴付けられています）。臨床的な2回投与レジメンと比較して、マウスでは単回免疫のみが実施されました。これは免疫応答の特性評価のみで十分でしたが、マウスでのチャレンジ研究は実施されませんでした。また、高齢動物における長期記憶反応の誘発や免疫原性および保護については、まったくまたは限定的な注意が払われていません。そうは言っても、マウス（VSV-SARS-CoV-2 S）と霊長類（SARS-CoV-2）の両方でのウイルス中和抗体の誘導は、BNT162b2免疫がヒトでも中和抗体を誘導する可能性があることを示しました。したがって、modRNAのワクチン接種は、強力な中和抗体と付随するT細胞応答を誘導して防御免疫を達成することが期待されます。長期記憶反応の誘発、免疫原性、および老齢動物の保護に対する注意は払われていないか、限られています。そうは言っても、マウス（VSV-SARS-CoV-2 S）と霊長類（SARS-CoV-2）の両方でのウイルス中和抗体の誘導は、BNT162b2免疫がヒトでも中和抗体を誘導する可能性があることを示しました。したがって、modRNAのワクチン接種は、強力な中和抗体と付随するT細胞応答を誘導して防御免疫を達成することが期待されます。長期記憶反応の誘発、免疫原性、および老齢動物の保護に対する注意は払われていないか、限られています。そうは言っても、マウス（VSV-SARS-CoV-2 S）と霊長類（SARS-CoV-2）の両方でのウイルス中和抗体の誘導は、BNT162b2免疫がヒトでも中和抗体を誘導する可能性があることを示しました。したがって、modRNAのワクチン接種は、強力な中和抗体と付随するT細胞応答を誘導して防御免疫を達成することが期待されます。

マウスでは、免疫応答は単回免疫のみによって評価されました。B細胞とT細胞の表現型をまとめると、データは、BNT162b2による免疫化によるSARS-CoV-2 S特異的中和抗体力価とTh1駆動T細胞応答の同時誘導を示しています（これは非ヒト霊長類でも見られました））。

非ヒト霊長類（アカゲザル）の研究に関して、申請者は、ワクチンに対する免疫応答の質を判断するための評価可能なベンチマークとして、ヒト回復期血清パネルを検討します。これはCHMPによって受け入れられます。

Ｔ細胞応答の特徴づけに関して、出願人は、ＩＦＮγ、ＩＬ－２、またはＴＮＦ－を産生する高頻度のＣＤ４ ＋ Ｔ細胞を含む、Ｓ特異的ＩＦＮγ産生Ｔ細胞応答を示唆している。αしかし、IL-4を産生するCD4 +細胞の頻度が低いことは、BNT162b2（V9）免疫後にTh1バイアス応答が発生したことを示しています。この推論はCHMPに受け入れられるようです。このようなTh1バイアス応答の役割は、抗原特異的抗体応答の生成および感染細胞の排除において重要な役割を果たす抗原特異的T細胞応答との関連で置かれ、疾患に対する防御を仲介します。

免疫されたマカクにSARS-CoV-2を投与すると、気管支肺胞洗浄（BAL）および中咽頭（OP）スワブにおけるウイルスRNAの存在の減少に対して明確で統計的に有意な効果が観察されました。肺のブラインドX線スコアリングによっても明らかな効果が記録されました。A

保護効果はチャレンジ後3日目のCTスコアでも明らかですが、10日目/ EOPでは、対照群で観察されたのと同じレベルで、6匹のBNT162b免疫サルのうち2匹にCT信号がありました。感染前のBNT162b免疫動物の6匹に1匹でも同様のCTスコア信号が観察されたため、この信号の重要性は不明です。この期間中、BNT162b2で免疫されたアカゲザルのSARS-CoV-2中和GMTは減少し続けましたが、ヒトの回復期血清パネルのGMTを上回ったままでした。

前臨床薬理学の結論として、免疫原性、中和抗体およびTh1応答の誘発、チャレンジされた動物におけるウイルスRNAの存在の減少、ならびに放射線肺パラメーターを含む提示されたデータは、ワクチン接種アプローチのサポートを提供します。動物モデル種とヒトの間の免疫系の種差のために、この候補ワクチンがヒトで十分に効果的であるかどうかの結論は、臨床研究で確立される必要があります。

薬物動態

薬物動態（2つの新規LNP賦形剤に関して）： 2つの新規脂質賦形剤は、製剤において異なる役割を果たし、異なる薬物動態を持っています。肝臓で経時的に持続的な動態を示す脂質はALC-0315であることに注意する価値があります。

ALC-0159は、疎水性炭素鎖（脂質アンカー）に結合したポリエチレングリコール（PEG）ヘッドグループ（〜2000 M.Wt.）で構成されています。ALC-0159は、他の脂質と比較して、BNT162に低mol％（<2 mol％）で存在するため、投与量が少なくなります。PEG化脂質は投与後にLNPから交換できるため、内因性タンパク質（アポリポタンパク質Eなど）の望ましい結合が可能になり、LNPと標的細胞およびタンパク質との相互作用を制限する立体障害が除去されます。

ALC-0315は、BNT162b2のイオン化可能なアミノ脂質であり、LNP内でのmRNAの効率的な自己組織化とカプセル化、および標的細胞へのmRNAの送達を成功させるための最も重要な脂質成分です。

PEG-脂質（ALC-0159）は、投与後、標的細胞への取り込み前にLNPから大部分が交換されるように設計されていますが、アミノ脂質（ALC-0315）は、エンドソームの取り込みと放出によるmRNAの効率的な細胞内送達に重要です。そしてLNPに留まらなければなりません。

ALC-0159は、主に強い親水性分子であることが知られているPEG分子の存在により、はるかに親水性が高くなります（Ma et al、1990）。この分子のより親水性で本質的な中性の性質により、ALC-0159は組織に対する親和性がはるかに低く、ALC-0315と比較して、組織から血漿への再分布に利用できるより遊離した化合物があります。したがって、除去はより迅速になります。

出願人は、2週間の薬物動態研究の過程で、ALC-0315の肝臓濃度が最大値から4倍低下したことを指摘し、肝臓に送達された物質の75％がこの2週間で排除されたことを示しています。

ALC-0315には既知の生物学はありません。この「生物学的関連性」がない場合、申請者は、ALC-0315の95％を超える除去の推定値を使用して、身体からの本質的な除去を表した。ラットへのIV投与後の肝臓におけるALC-0315の消失半減期は約6〜8日です。これらのデータは、ALC-0315の95％の除去が約発生することを示しています。ラットへの最終投与から30〜40日後。

終末半減期、脂質ナノ粒子が送達される組織からの再分布に関与するプロセスの理解に基づいて、ヒトで同様の半減期と95％の消失までの時間が予想されます（Mahmood et al、2010）。パチシランの同等の脂質（PEG2000-C-DMG、DLin-MC3-DMA）のスケーリングを調べると、これらの脂質の半減期は、通常使用される半減期の指数（0.25）に近い値でスケーリングしているように見えます。 。これがALC-0315の場合である場合、

ALC-0315の場合はヒトで約20〜30日、脂質の95％除去の場合は4〜5か月の半減期が見込まれます（Mahmood et al、2010）。

両方の脂質は、クリニックで本質的に同様のPKプロファイルを示し、強い二相性プロファイルと長い終末半減期を示しました。

毒性試験と臨床的に有効な用量（3001000x）との間の用量の大きな違いを考えると、追加免疫用量の投与が有意な蓄積につながる可能性は低いです。これはCHMPによって指摘されています。

生体内分布： いくつかの文献報告は、LNPで処方されたRNAが、脾臓、心臓、腎臓、肺、脳などのいくつかの臓器にかなり非特異的に分布する可能性があることを示しています。

これと一致して、新たに送信された研究185350の結果は、卵巣と精巣における放射能が低く測定可能な、より広範な生体内分布パターンを示しています。DARTデータに現在毒性がないこと、反復投与試験で性腺に毒性学的所見がないこと、および性腺の放射能が低かった（総用量の0.1％未満）ことを考えると、現在のデータは示していないそれは安全上の懸念です。ラットで使用される比較的高い用量（体重に基づくヒトの用量の500倍のマージン）も、ヒトの性腺への分布からのリスクが低いことを裏付けています。

RNAの安定性と動態は、すべてのRNAで同じであるとは限らず、RNAのヌクレオシドの影響を受けますが、全長スパイク（S）タンパク質の発現は、一過性のルシフェラーゼと同様の動態に従うと予想されます。時間の経過とともに発現が低下するため、シグナルの安定性/持続性の違いがルシフェラーゼタンパク質とスパイク（S）タンパク質の間で異なる可能性があることを排除することはできません。

追加のhPBMC研究（R-20-0357）では、低レベルの炎症誘発性サイトカイン（TNF、IL-6、IFNγ、IL-1β）および低レベルまたは中レベルのケモカイン（IP-10、MIP-1β、MCP）-1）探索的試験でアッセイしたときに分泌された *試験管内* で3人のドナーからのヒトPBMCを使用した反応原性アッセイ。出願人は、ドナー間のばらつきを考慮し、実験におけるドナーの数が少ないことに基づいて、サイトカイン分泌の特定の一般的な傾向は観察できないことを強調している。

毒物学

ラットでは広範な薬理学的評価は行われていませんが（マウスと非ヒト霊長類のみ）、反復投与毒性試験ではラットを毒物学的動物モデルとして使用しました。反復投与毒性試験での陽性中和アッセイの結果は、V8およびV9がこの種で免疫応答（すなわちSARS-CoV-2抗体）を生成し、動物モデルとしてのラットの使用を部分的に支持することを示しています。ラットにおける他のSARS-CoV-2免疫応答は不明なままです。特に注射部位（浮腫、紅斑など）での免疫応答は、研究の各注射で増加するようです（n = 3）。急性期タンパク質、フィブリノーゲン、およびアルブミン-グロブリン比の顕著な増加がありました（ただし、V8ではサイトカインの増加はなく、V9では不明です）。免疫細胞（LUC、好中球、好酸球、好塩基球）および赤血球パラメーター（網状赤血球、RGB、HGB、HCT）の減少。脾臓は30ugV9と100ugV9の両方で拡大し、排液リンパ節と鼠径リンパ節は主に100ug（V8）で拡大しましたが、30ug（V9）で少数の動物でも拡大しました。

全身性補体活性化（リポソーム薬物および生物学的製剤によって誘発され、過敏反応を引き起こす可能性がある）は、そのような臨床症状を示す兆候が検出されなかったため、調査されませんでした。研究に用量反応設計がないため、効果を解釈するのが難しくなります。全体として、V8およびV9試験物質は、17日間の暴露後、ラットにおいて強力であるがほとんど可逆的な免疫関連反応を引き起こした。20GR142試験では、好中球、単球、好酸球、好塩基球の増加が観察されました。申請者にとって、20GR142試験で観察された好中球、単球、好酸球および好塩基球の増加は、

BNT162b2投与に対する炎症/免疫応答。同様の所見は、100μgのBNT162b2を投与された動物の38166試験でも確認されました。申請者は、好酸球および好塩基球の増加は、好中球の増加によって支配される炎症性白血病のマイナーな要素であると述べた。出願人はまた、これらの細胞の同定は追加の情報を提供しないので、大きな未染色の細胞の特徴付けは行われなかったことを通知した。CHMPはこの立場に同意しました。

ワクチン成分に関しては、製剤全体（LNPの修飾RNA）のみが使用されたため、LNPのみまたはその特定の新規添加剤に関する毒性データはありません。新規のLNP成分、これらは主に補助物質とは見なされません。

遺伝毒性または発がん性の研究は提供されていません。ワクチン製剤の成分は、遺伝毒性の可能性があるとは予想されない脂質とRNAです。

新規添加剤ALC-0159には、潜在的なアセトアミド部分が含まれています。申請者が実施したリスク評価は、アセトアミドの遺伝毒性が高用量および慢性投与（1000mg / kg /日以上）に関連する文献データに基づいて、この賦形剤に関連する遺伝毒性のリスクが非常に低いことを示しています。最終製品中のALC-0159添加剤の量が少なく（50 μg /用量）、そのクリアランスが高く、製品の2回投与のみがヒトに推奨されているため、遺伝毒性リスクは非常に低いと予想されます。

ラットでの薬物動態分布研究が示したように、総投与量の注射部位のレベルに次ぐ比較的大きな割合が肝臓に分布します（最大18%、脾臓で見られるレベルよりはるかに多い[<1.1%]、副腎[<0.1%]および卵巣[<0.1%]）。肝臓に重篤な病因はありませんでしたが、V8およびV9ではいくつかの可逆的な機能的な肝臓および/または胆管への影響がありました（肝臓の拡大、空胞化、200%を超えるγGTレベルの大幅な増加および活性、ASTおよびLNPにリンクされている可能性のあるALP）。γGTの変化は30ugV9では観察されませんでした。これは、バリアントの違いや、より可能性が高いのは低用量が原因である可能性があります。出願人は、液胞は主に肝臓におけるALC-0315の蓄積の結果であるとの見解である。標的細胞への効率的な取り込みを促進するために、ALC-0159をLNPの表面から失う必要があることに注意することができます。同時に、ALC-0315はBNT162ワクチンの他の脂質と比較して高いmol%（50 mol%）でLNPに存在し、この脂質が細胞内（およびおそらく液胞）。

DART研究に関して入手可能なデータの評価は、生殖能力と初期胚発生の影響に明らかな有害な兆候がないことを示しています。ダムの発情周期への影響はありませんでしたが、着床前損失が約2倍に増加しました（対照の4.1%に対して約9.77%）が、これらの影響は過去の対照データ（5.1%から11.5%）内にあるため、これらの調査結果特に懸念を表明しないでください。DART動物モデルとしてのラットの選択は、ワクチン候補に対する免疫応答を実証する反復投与毒性ラット研究[V8およびV9]およびBowman et al（2013; PUBMED ID [PMID] 24391099）は、胎児と母体のIgG比は器官形成中は比較的低いが、これらの比はラットとヒトの両方で妊娠の終わりまでに1に近づくことを報告しています。

2.3.6。非臨床的側面に関する結論

申請者は、非臨床的観点からMAを付与するために提起された他の懸念に十分に対処しました。

CHMPは、非臨床データは、反復投与毒性および生殖および発生毒性の従来の研究に基づいて、ヒトに特別な危険性を示さないとの見解です。

Comirnatyを筋肉内投与した一部のラット（週に1回、ヒト全体に3回投与し、体重の違いによりラットで比較的高い曝露を引き起こした）は、注射部位の浮腫と紅斑を発症し、白血球（好塩基球と好酸球を含む）が増加しました。肝障害の証拠のない門脈肝細胞の空胞化と同様に炎症反応。すべての効果は可逆的でした。これらの調査結果は、SmPCセクション5.3で説明されています。

ガイダンスによると、遺伝毒性または発がん性の研究は行われていません。ワクチンの成分（脂質とmRNA）は遺伝毒性の可能性があるとは予想されていません。これはCHMPに受け入れられます。

最後に、生殖能力と発生毒性を組み合わせた研究では、SARS-CoV-2中和抗体反応が、交配前から生後21日目の研究終了までの母動物、および胎児と子孫に存在することが示されました。離乳まで、女性の生殖能力、妊娠、または胚胎児または子孫の発育に対するワクチン関連の影響はありませんでした。CHMPは、ワクチンの胎盤移行または乳汁中への排泄に関するデータは入手できないと述べた。

2.4。臨床的側面

2.4.1。前書き

ファイザーとBioNTechは、COVID-を予防することを目的としたSARS-CoV-2を標的とするワクチンを開発しました。
19、BioNTechは2020年4月にドイツでFIH研究を開始し（BNT162-01）、ファイザーはその直後に米国でフェーズ1/2/3研究（C4591001）を開始し、フェーズ2の開始時にグローバルサイトを含むように拡大しました。 / 3研究の一部。

フェーズ1/2試験BNT162-01

研究BNT162-01は、進行中のFIH、フェーズ1用量レベル測定研究であり、18〜55歳の健康な成人全員が有効なワクチンを接種します。この研究では、さまざまな用量レベルでのいくつかの異なる候補ワクチンの安全性と免疫原性を評価しています。その後、プロトコルが修正され、85歳までの高齢者の参加者を含めることができるようになりました。このアプリケーションでは、18〜55歳の成人の利用可能なフェーズ1の安全性および免疫原性データが報告されています。この研究では、複数のワクチン候補が評価されています。各ワクチン候補について、参加者は、スポンサー安全審査委員会（SRC）からの推奨に基づいて、漸増用量レベル（用量レベルあたりN = 12）を受け取り、その後の用量レベルに進行しました。

フェーズ1/2/3研究C4591001

研究C4591001は、登録のための進行中のランダム化プラセボ対照フェーズ1/2/3ピボタル研究です。これは、米国の成人を対象としたフェーズ1/2試験として開始され、その後、タイムリーな有効性評価を実施するのに十分なCOVID-19症例を獲得するために、約44,000人の参加者を登録することを計画しているグローバルなフェーズ2/3試験に拡張するように修正されました。；16〜17歳の年配の青年を含むように修正され、その後、12〜15歳の若い青年を含むように修正されました。フェーズ1では、若い参加者（18〜55歳）と年配の参加者（65〜85歳）の2つの年齢グループを別々に調査しました。研究対象集団には、病歴、身体検査（必要な場合）、および研究に含める資格があるとの研究者の臨床的判断によって決定される健康とみなされる男性および女性の参加者が含まれます。

GCP

申請者は、申請に含まれる臨床試験はGCPに従って実施されたと主張しました。

申請者は、コミュニティ外で実施された臨床試験が指令2001/20 / ECの倫理基準に従って実施されたという趣旨の声明を提出しました。

さらに、COVID-19パンデミックの文脈で、このドシエに含まれる研究のGCPコンプライアンスのさらなる安心を求めるために、EMAはEUおよび非EU規制当局から以下に示す追加情報を収集し、それらを評価で考慮されるCHMP：

- RegierungspräsidiumKarlsruheとPaulEhrlich-InstitutによるGCP検査からの完全な検査レポートは、BNT162-01の研究のために調査サイトの1つとドイツのCROで実施されました。
- 研究C4591001（BNT 162-02）のための米国の6つの調査サイトの食品医薬品局（米国規制当局）によるGCP検査からの施設検査レポート。
- C4591001（BNT 162-BNT 162-）の調査のために、アルゼンチンにある単一のサイトで実施された、医薬品、食品、医療機器の国家管理局（アルゼンチン規制当局）による2つのGCP検査の結果の完全な検査レポートと要約。

02）。

臨床データと上記のレポートのレビューに基づいて、CHMPは、この書類に含まれる臨床試験のGCP検査の必要性を特定しませんでした。

- 臨床試験の表形式の概要

表1臨床開発の概要

Sponsor	Study Number (Status)	Phase Study Design	Test Product (Dose)	Number of Subjects	Type of Subjects (Age)
BioNTech	BNT162-01 (ongoing)	Phase 1/2 randomized, open-label, dose-escalation, first-in-human	BNT162b2 (1, 3, 10, 20, 30 µg)	Phase 1: 60	Adults (18-55 years of age)
BioNTech (Pfizer)	C4591001 (ongoing)	Phase 1/2/3 randomized, observer-blind, placebo-control	Phase 1: BNT162b2 (10, 20, 30 µg) Placebo	Phase 1: 90 randomized 4:1 (within each dose/age group)	Phase 1: Adults (18-55 years of age, 65-85 years of age)
			Phase 2: BNT162b2 (30 µg) Placebo	Phase 2: 360 randomized 1:1	Phase 2: Adults (18-55 years of age, 65-85 years of age)
			Phase 3: BNT162b2 (30 µg) Placebo	Phase 3: ~44,000 randomized 1:1 (includes 360 in Phase 2)	Phase 3: Adolescents, Adults (12-15 years of age, 16-55 years of age, >55 years of age)

Note: study information relevant to the scope of data presented in this application are summarized in this table.

表2重要な第3相試験の概要

研究ID	の数 調査 センター/ 場所	設計	調査 ポソロジー	研究目的	診断 含む 基準	プライマリエンドポイント
C4591001	131ユナイテッド 州 9トルコ 6ドイツ 4南 アフリカ 2ブラジル 1 アルゼンチン。	ランダム化、 多国籍、 プラセボ- 制御された、 オブザーバーブラインド、	2回分 30 µg 与えられた21 日間隔	プライマリ： 評価するには BNT162b2の有効性 確認されたに対して 重度のCOVID-19 参加者の2回目の投与後7日と14日から発生 ありとなし 感染の証拠 予防接種前	元気 ボランティア のリスクがある COVID-19（新型コロナウイルス感染症）（[illegible]がない場合、初出時にかっこ書きを追加	COVID-19発生率/ 1000人年 に基づくフォローアップ 中央研究所または ない参加者でローカルに確認されたNAAT 血清学的またはウイルス学的 過去のSARS-CoV-2感染の証拠（2回目 の投与を受けてから最大7日後）

2.4.2。薬物動態

適用できません。

2.4.3。薬力学

作用機序

ワクチン中のヌクレオシド修飾メッセンジャーRNAは脂質ナノ粒子で処方されており、宿主細胞へのRNAの送達を可能にして、SARS-CoV-2S抗原の発現を可能にします。ワクチンは、スパイク（S）抗原に対する中和抗体と細胞性免疫応答の両方を誘発し、COVID-19に対する防御に寄与する可能性があります。

免疫原性研究

ワクチンの場合、薬力学は免疫原性の調査に関連しています。入手可能なデータは、ドイツで実施されたフェーズ1/2試験BNT162-01、および米国で実施されたフェーズ1/2/3試験C4591001のフェーズ1および2の部分から生成されました（後のフェーズは多国籍でした）。両方の研究は、最適なワクチン候補と、さらなる研究のための適切な用量とスケジュールを選択するように設計されました。最初にテストされた4つの予防的SARS-CoV-2RNAワクチンの中から、次の2つの候補がさらなる開発のために選択されました。

BNT162b1 ：RBD（受容体結合ドメイン）をコードするヌクレオシド修飾メッセンジャーリボ核酸（modRNA）を含むRNA-脂質ナノ粒子（LNP）ワクチン

BNT162b2 ：SARS-CoV-2完全長、P2変異体（セクション2.2.2を参照）、融合前スパイク糖タンパク質（P2 S）をコードするmodRNAを含むRNA-LNPワクチン。

2つの研究の主な特徴は、以下の表に要約されています。

スタディID	BNT162-01	C4591001
題名	マルチサイト、フェーズ1 / 2、2部、用量- 安全性を調査するエスカレーショントライアル と4つの免疫原性 予防的SARS-CoV-2RNA COVID-19に対するワクチンを使用して	フェーズ1/2/3、プラセボ対照、 ランダム化、オブザーバー-ブラインド、用量- 安全性を評価するための研究を見つける、 忍容性、免疫原性、および SARS-COV-2RNAワクチンの有効性

	健康な成人における異なる投与計画	健康な個人におけるCOVID-19に対する候補者
設計	これは、非盲検、マルチサイト、フェーズ1 / 2、2部、用量漸増試験です。研究のパートAには、健康な成人（18〜85歳）の最初のヒト用量および用量範囲グループが含まれています。	これはフェーズ1/2/3、ランダム化、多国籍、プラセボ対照、 オブザーバーブラインド、用量設定、ワクチン 候補者の選択と有効性 健康な人を対象に研究します。この研究は2つの部分で構成されています。好ましいワクチン候補と用量レベルを特定するためのフェーズ1。拡張されたコホートおよび有効性の部分としてのフェーズ2/3。
免疫原性 目的	用量1のみ、または用量1と用量2の両方の後の健康な成人の免疫応答を説明する 機能的抗体価で測定	1回または2回の投与後に健康な成人で予防的BNT162ワクチンによって誘発される免疫応答を説明する
調査 人口	18〜55歳の健康な成人 BNT162b1 ：N = 84（12 /グループ） BNT162b2 ：N = 60（12 /グループ） 56〜85歳の健康な成人 BNT162b1 ：N = 36（12 /グループ） BNT162b2 ：N = 36（12 /グループ）	18歳から55歳まで、および65歳から85歳までの男性または女性の参加者 フェーズ1は、グループごとに15人の参加者（ランダム化比率4：1で、12人が活性ワクチンを受け、3人がプラセボを受けた）で構成されました。合計195人の参加者に対応する13のワクチングループが研究されました（100μgの用量は若い成人のコホートでのみ使用されました）
IMPと用量 レベル	BNT162b1 ：1μg、3μg、10μg、20μg、30μg、50μg、および60μg。 BNT162b2 ：1μg、3μg、10μg、20μg、30μg	BNT162b1： 10μg、20μg、30μg、100μg BNT162b2： 10μg、20μg、30μg プラセボ：通常の生理食塩水
投薬 周波数	約21日間隔で2回の注射	約21日間隔で2回の注射
免疫原性 エンドポイント	ウイルス中和試験（VNT）。 抗体結合アッセイ、 CMIアッセイ、例えばELISpotおよび細胞内サイトカイン染色（ICS）。	SARS-CoV-2中和アッセイ S1結合IgGレベルアッセイRBD結合IgGレベルアッセイN結合抗体アッセイ

免疫原性の評価に使用されるエンドポイントとアッセイ

BNT162-01試験では、SARS-CoV-2血清中和アッセイを使用してフェーズ1で免疫原性を評価し、中和力価とSARS-CoV-2血清中和力価の上昇倍率を測定しました。免疫原性は、1日目（用量1の前）および用量1の7日後（8日目）に評価されました。22日目（用量2の前）および用量2の7日後、14日後、および21日後。適格なアッセイのみを使用しました。さらに、末梢血単核細胞（PBMC）から分離されたT細胞

ワクチン接種されたフェーズ1参加者の全血サンプルは、酵素免疫測定法（ELISPOT）によって評価され、細胞内サイトカイン染色は蛍光活性化セルソーティング（FACS）で視覚化されました。血液サンプルは、最初のワクチン投与前と2回目のワクチン投与後29日目（7日）に研究参加者から収集されました。評価には、IFNγやIL-2などのTh1応答に関連するサイトカインと、IL-4などのTh2応答に関連するサイトカインが含まれ、バランスの取れた免疫応答とTh1優勢またはTh2優勢の免疫応答の誘導を分析しました。

研究C4591001では、免疫原性をフェーズ1およびフェーズ2で評価し、SARS-CoV-2血清中和アッセイを使用して力価を決定し、SARS-CoV-2RBDまたはS1結合IgGダイレクトルミネックスイムノアッセイを使用して抗体結合レベルを決定しました。倍数の上昇も評価されました。適格なアッセイのみが使用されました。フェーズ1では、免疫原性を1日目（用量1の前）と用量1の7日後に評価しました。21日目（用量2の前）および用量2の7日後、14日後、および1か月後。データは各用量レベルおよび年齢グループについて要約されました。フェーズ2では、免疫原性を1日目（用量1の前）と用量2の1か月後に評価しました。データは各年齢層グループについて、NAAT（PCR）またはNごとのベースラインでの以前のSARS-CoV-2感染の証拠によって要約されました。 -結合IgGアッセイ。研究C4591001で生成された免疫原性データの解釈を容易にするため。ヒト回復血清（HCS）パネルは、Sanguine Biosciences（Sherman Oaks、CA）、MT Group（Van Nuys、CA）、およびPfizer Occupational Health and Wellness（Pearl River、NY）から入手しました。パネルの38の血清は、SARSCoV-2感染またはCOVID-19と診断された、無症候性のときにPCRで確認された診断から14日以上経過した18〜83歳の個人から収集されました。血清ドナーは、入院した1人を含む主に症候性感染症（38人中35人）を患っていた。フェーズ3では、探索的免疫原性評価が24か月までの時点で計画されており、後で報告されます。パネルの38の血清は、SARSCoV-2感染またはCOVID-19と診断された、無症候性のときにPCRで確認された診断から14日以上経過した18〜83歳の個人から収集されました。血清ドナーは、入院した1人を含む主に症候性感染症（38人中35人）を患っていた。フェーズ3では、探索的免疫原性評価が24か月までの時点で計画されており、後で報告されます。パネルの38の血清は、SARSCoV-2感染またはCOVID-19と診断された、無症候性のときにPCRで確認された診断から14日以上経過した18〜83歳の個人から収集されました。血清ドナーは、入院した1人を含む主に症候性感染症（38人中35人）を患っていた。フェーズ3では、探索的免疫原性評価が24か月までの時点で計画されており、後で報告されます。

これらは、臨床試験で使用された免疫原性アッセイです。

ヒト血清中のSARS-CoV-2S1結合IgGの定量化のためのシングルプレックス直接ルミネックスアッセイヒト血清中のSARS-CoV-2RBD結合IgGの

定量化のためのシングルプレックス直接ルミネックスアッセイRocheElecsys SARS-CoV-2 N結合抗体アッセイ

mNeonGreenSARS-CoV-2マイクロ中和アッセイELISpotアッセイ

BNT162b1およびBNT162b2の細胞内サイトカイン染色（ICS）

SARS-CoV-2 Wuhan-Hu-1分離スパイク糖タンパク質（GenBankアクセッション番号QHD43416.1）は、Luminexアッセイで使用される組換えS1およびRBDタンパク質の参照配列です。SARSCoV-2中和アッセイでは、前述のSARS-CoV-2株（USA_WA1 / 2020）を使用しました。

BNT162-01の研究

免疫原性-機能的抗体反応（二次目的）

機能的抗体価データは、1日目（すべての用量レベル）および22日目（60μgを除くすべての用量レベル）に1、10、30、50、および60μgのBNT162b1を投与された若年成人（18〜55歳）の43日目まで利用可能です。 ）（グループあたりn = 12）。1日目および22日目に1、10、20、および30μgのBNT162b2を投与された若年成人の50日目までの10および30μgのデータが利用可能です（用量レベル1μg、n = 9;用量レベル10、

20、および30μg、n = 12）。

BNT162b1投与後18〜55歳の参加者のウイルス中和抗体GMTを図3に示します。22日目、初回投与後21日目に、ウイルス中和抗体GMTはすべての用量群で用量依存的に増加しました。 。2回目の投与後7日（29日目）に、中和GMTは強力な用量レベル依存の追加免疫反応を示した。60μgの用量群では、

これは一度だけ投与されたが、中和GMTはより低いレベルのままであり、機能的抗体力価を増加させるために追加免疫投与が必要であることを示している。

43日目（BNT162b1の2回目の投与から21日後）に、中和GMTが減少しました（1μgの投与量レベルを除く）。43日目のウイルス中和GMTは、COVID-19 HCSパネルの0.7倍（1μg）から3.6倍（50μg）でした。

COVID-19 HCSパネルは、診断が確定してから少なくとも14日後、および個人が無症候性であった時点で、18〜83歳の個人から採取された38人のヒトCOVID-19HCS血清で構成されています。

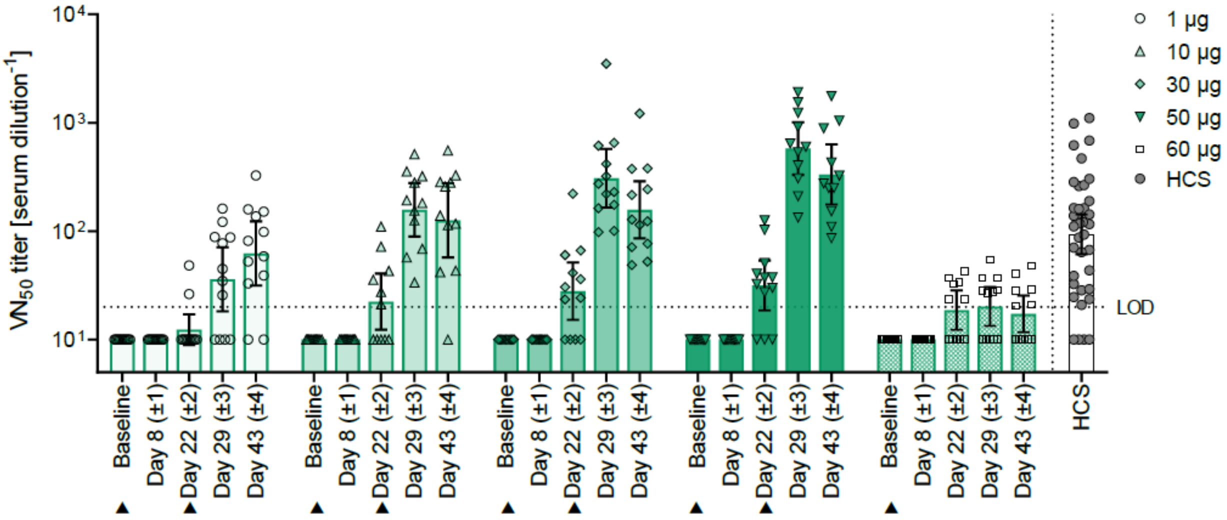


図3：BNT162b1 –機能的な50%SARS-CoV-2中和抗体価（VN50）– IMM

VN_{50}で免疫された若い参加者（18〜55歳）の95%信頼区間の力価が示されています

1、10、30、50、または60μgのBNT162b1。検出限界（LOD）より小さい値は、0.5 * LODとしてプロットされます。矢印はベースライン（投与前1、1日目）と投与2（22日目）を示します。用量2は60μg用量群では実施されなかった。水平の点線はLODを表します。IMM =免疫原性セット; VN50 = 50%SARS-CoV-2中和抗体価; HCS =ヒトCOVID-19回復期血清

BNT162b2を投与してから18〜55歳の参加者のウイルス中和抗体GMTについては、図4を参照してください。BNT162b2を投与した参加者は、強力なIMP誘導抗体反応を示しました。ウイルス中和GMTは、用量1（22日目）の21日後に検出され、3 μg以上のBNT162b2で免疫された若い参加者（18〜55歳）および20 μgで免疫された高齢の参加者（56〜85歳）で大幅に増加しました。用量2（29日目）の7日後までにBNT162b2。29日目のウイルス中和GMTは、20 μgの用量レベルのコホートで若年成人と高齢者の間で同等でした。テストされた最低用量の1μg BNT162b2は、18〜55歳の参加者で最小限の中和反応しか誘発しませんでした。

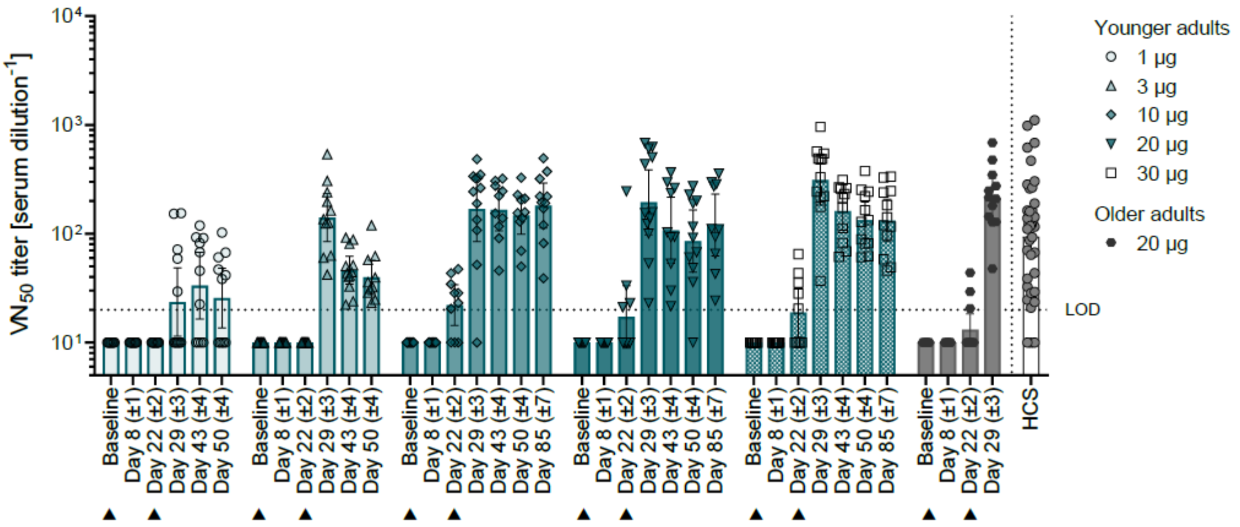
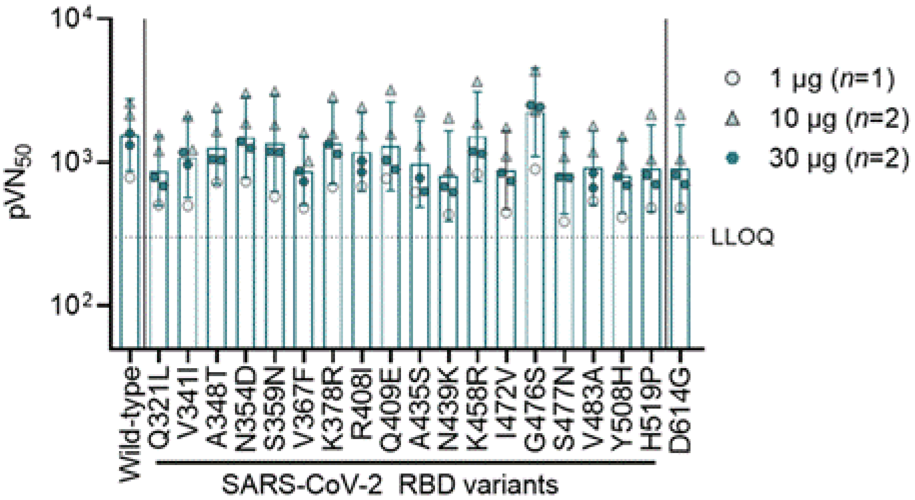


図4：BNT162b2 –機能的な50%SARS-CoV-2中和抗体価（VN50）– IMM
1、3で免疫された若い成人（18〜55歳）について、95%信頼区間のVN50力価が示されています。
10、20、または30μgのBNT162b2、および20μgのBNT162b2で免疫された高齢者（56〜85歳）。検出限界（LOD）より小さい値は、0.5 * LODとしてプロットされます。矢印はベースライン（投与前1、1日目）と投与2（22日目）を示します。水平の点線はLODを表します。

IMM =免疫原性セット; VN50 = 50%SARS-CoV-2中和抗体価; HCS =ヒトCOVID-19回復期血清。

異なるスパイクタンパク質変異体の中和

BNT16201研究のBNT162b1およびBNT162b2で免疫された参加者からの血清を用いた偽ウイルス中和アッセイで、RBD配列変異体を含むさまざまな偽ウイルスがテストされました。スパイクタンパク質変異体の効率的な中和は、BNT162b1およびBNT162b2で免疫された参加者からの血清で観察され、ワクチン誘発ポリクローナル抗体の中和幅を示しています。



18個のRBD変異体と優勢なスパイクタンパク質変異体D614Gを含む19個のSARS-CoV-2スパイクタンパク質変異体を含む疑似ウイルスパネル全体での偽ウイルス50%中和力価（pVNT50）によるBNT162b2誘導ウイルス中和力価。LLOQ =低レベルの定量化（300）。データは、95%CIのグループ（合計n = 5）GMTとして表示されます。

細胞性免疫（CMI）

CMIは、ELISpotによってIFNγ産生CD4 +およびCD8 + T細胞に関して測定されました。両方のワクチン候補は明確な反応を引き出しました（ベースライン対投与後2）。Th1サイトカイン（IFNγ、IL-2）およびTh2サイ トカイン（IL-4）の細胞内サイトカイン染色を使用して、さらなる特性評価を決定しました。両方のワクチン候補は、CD4およびCD8T細胞の両方で主にTh1応答を刺激しました。

研究C4591001

<u>メソッド</u>

研究C4591001からの免疫原性データの統計分析は、評価可能な免疫原性集団とすべての利用可能な免疫原性集団に基づいていました。フェーズ1およびフェーズ2のデータは、SARS-CoV-2血清中和力価およびSARS-CoV-2S1結合およびRBD結合IgG濃度について次のように報告されました。

- 幾何平均力価/濃度（GMT / GMC）幾何平均倍増（GMFR）
-
- 幾何平均比（GMR）（フェーズ1のみ）
- 定義された閾値での抗体価/レベルが4倍以上上昇した参加者の割合（フェーズ1のみ）
-

SARS-CoV-2血清中和力価およびS1またはRBD結合IgG濃度の免疫原性の結果については、GMTまたはGMCを関連する95％CIで計算しました。

GMFRは、対数変換されたアッセイ結果の差の平均を指数化することによって計算されました:(後の時点）–（前の時点）両側CIを使用。GMRは、対数変換されたアッセイ結果の差の平均として計算されました：（SARS-CoV-2血清中和力価）

–各参加者の（SARS-CoV-2抗S結合抗体）、次に両側CIで平均を指数化します。

<u>結果</u>

この研究は、2つのSARS-CoV-2 RNAワクチン候補を、2回投与（21日間隔）スケジュールとして、さまざまな投与量レベル（BNT162b1：10、20、30、および100μg、BNT162b2：10）で評価することを目的としています。 20、および30μg）およびさまざまな年齢層（18 55歳; 65-85歳）で、フェーズ2/3でさらにテストするためのワクチンと用量レベルを選択します。締切日：2020年8月24日（投与後1ヶ月2 = D52）。

免疫原性の結果は、10 μg、20 μg、および30 μgの用量レベルでのBNT162b1およびBNT162b2ワクチン候補の用量2後1か月まで、および用量1の投与後7週間までの両方の成人年齢グループで利用できます。 100 μg用量レベルのBNT162b1（若い年齢層のみ）。

用量1の時点から7日間の結果は、10 μgおよび30 μgのBNT162b1について、より若い年齢層（18〜55歳）でのみ分析および提示されます。

免疫原性の結果SARS-CoV-2中和抗体BNT162b1

若い年齢層では、SARS-CoV-2 50％中和GMTは、BNT162b1の投与1後21日目までに適度に増加し、投与2後（28日目）に大幅に増加しました（図5）。

一般的に同様の傾向が高齢者グループで観察され、10μg用量群と比較してBNT162b1の20μgおよび30μg用量群でより高いGMTが観察されました（図6）。高齢者では